

UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA

E.A.P. DE MEDICINA VETERINARIA

**Evaluación de la relación madre-cría en la
presentación de ooquistes de *Cryptosporidium* spp. en
alpacas en el departamento de Puno**

TESIS

Para optar el Título Profesional de Médico Veterinario

AUTOR

Mariella Patricia Chávez Rodríguez

ASESOR

Armando E. González Zariquey

Lima - Perú


2015



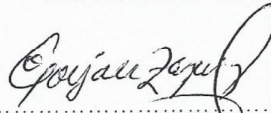
UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS
Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA
Facultad de Medicina Veterinaria
ESCUELA ACADÉMICO-PROFESIONAL DE MEDICINA VETERINARIA

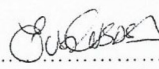
Trabajo sustentado y aprobado ante el Jurado designado por la Escuela Académico Profesional de Medicina Veterinaria mediante Resolución Directoral N° 164-EAPMV/FMV-2015

PRESIDENTE :


NORMA NOÉ MOCSETTI

MIEMBROS :


ARMANDO GONZÁLEZ ZARIQUIEY
Asesor de la Tesis


EVA CONSUELO CASAS ASTOS


WILFREDO HUANCA LÓPEZ

San Borja, 18 de diciembre de 2015

Vº Bº

.....
MV. Mg. HERMELINDA RIVERA GERÓNIMO
Directora de la Escuela Académico Profesional de
Medicina Veterinaria





UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS
(Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA)
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA
ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE MEDICINA VETERINARIA



ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE MÉDICO VETERINARIO

En el auditorio principal de la Facultad de Medicina Veterinaria, el día viernes **18 de diciembre de 2015**, a las **12:00** horas, se constituyó el Jurado Examinador designado mediante Resolución Directoral N° 164-EAPMV/FMV-2015, integrado por los siguientes profesores:

NORMA NOÉ MOCSETTI	Presidente del Jurado
ARMANDO GONZÁLEZ ZARIQUIEY	Asesor de la Tesis
EVA CONSUELO CASAS ASTOS	Miembro del Jurado
WILFREDO HUANCA LÓPEZ	Miembro del Jurado

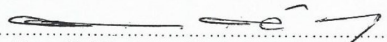
Luego de la instalación del Jurado, a cargo del Presidente del Jurado y bajo la dirección del mismo, la Bachiller Doña: **CHÁVEZ RODRÍGUEZ, MARIELLA**, para optar el Título Profesional de Médico Veterinario, procedió a sustentar públicamente la Tesis:

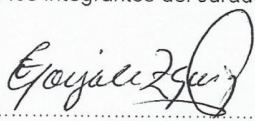
**"EVALUACIÓN DE LA RELACIÓN MADRE-CRÍA EN LA PRESENTACIÓN DE
OOQUISTES DE *Cryptosporidium parvum* EN ALPACAS EN EL DEPARTAMENTO DE
PUNO"**

Luego de absolver las preguntas del Jurado y del público asistente, el Jurado deliberó con la abstención reglamentaria del Asesor de la Tesis y acordó su **APROBACIÓN** por **UNANIMIDAD**, otorgándole la nota de **DIECIOCHO (18)**.

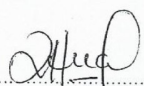
Habiéndose aprobado la sustentación pública de la Tesis, el Presidente en representación del Jurado recomienda que la Escuela Académico Profesional de Medicina Veterinaria proponga la aprobación del **TÍTULO PROFESIONAL DE MÉDICO VETERINARIO** a la Facultad de Medicina Veterinaria y que ésta proponga al Rectorado el otorgamiento respectivo.

Siendo las **12:50 horas**, concluyó el acto académico de sustentación pública de Tesis en fe de lo cual suscriben la presente acta por cuadruplicado los integrantes del Jurado:


Norma Noé Moccetti: MPH. Prof. Principal, D.E.


Armando González Zariquiey: PhD. Prof. Principal, T.C.


Eva Consuelo Casas Astos: MV. Prof. Asociado, T.C.


Wilfredo Huanca López: MV. Prof. Asociado, D.E.



A mis padres, Juan y Elsa, por todo el cariño y apoyo que siempre me brindaron y por ser el ejemplo y guía que tengo en mi camino para tratar de ser una mejor persona.

A mi esposo, Miguel, por ser mi cómplice, mi compañero, el artífice de mis alegrías y el amor de mi vida. Por siempre alentarme a seguir mis sueños, ya que sin toda su ayuda y amor, esta tesis no hubiera sido posible.

A mi nena, por ser el pequeño rayito de sol que ilumina cada uno de mis días.

A mi hermano, Juan Manuel, y a mi cuñada, Rosalí, por su constante preocupación y apoyo en cada etapa de esta tesis y de mi vida.

A mi hermanito, Juan Francisco, por ser una constante fuente de alegría y cariño.

A mis tías, Amelia y Lucy por todo el cariño y apoyo que siempre me brindaron, haciéndome sentir como una hija para ellas.

Al Dr. Luis Gómez, por todo el apoyo y amistad brindados.

A la Dra. Teresa López, mi asesora, por su infinita ayuda y paciencia, por los consejos y cariño que siempre me brindó, lo cual la convirtieron en mi guía no solo académica sino además en un ejemplo de vida para mí, ejemplo que espero no defraudar y así poder siempre compartir con ella todos mis logros y alegrías.

Al Dr. Armando Gonzales, mi director, por la orientación y consejos que siempre recibí de él, ofreciéndome su sabiduría, apoyo y confianza para el desarrollo de esta tesis, además de brindarme lo más valioso como es su amistad sincera.

ÍNDICE DE CONTENIDOS

AGRADECIMIENTOS	ii
RESUMEN	v
ABSTRACT	vi
LISTA DE CUADROS	vii
LISTA DE FIGURAS	viii
I. INTRODUCCIÓN	1
II. REVISIÓN BIBLIOGRAFICA	3
1. Generalidades	3
2. Ciclo Biológico	4
3. Especies y Características Morfológicas.....	6
4. Epidemiología	9
4.1. Criptosporidiosis en Rumiantes	13
4.2. Criptosporidiosis en Ganado Porcino	15
4.3. Criptosporidiosis en Animales de Compañía	15
4.4. Criptosporidiosis en Equinos	15
5. Fuentes de Contagio y Vías de Transmisión	16
6. Factores de Riesgo Asociados a la Presencia de <i>Cryptosporidium</i>	16
6.1. Factores Epidemiológicos Asociados al Parásito.....	16
6.2. Temperatura y Clima	17
6.3. Edad del hospedador	17
6.4. Alimentación de la Cría	18
7. Signos Clínicos y Lesiones	19
8. Periodo de Incubación	19
9. Diagnóstico	20
10. Tratamiento	21
11. Control	22
12. Prevención	24

III.	MATERIALES Y METODOS	25
1.	Lugar de Ejecución y Periodo de Duración	25
2.	Descripción del Material Experimental	25
3.	Metodología	25
3.1.	Recolección y Procesamiento de las Muestras	25
3.2.	Criterio Diagnóstico	26
3.3.	Criptosporidiosis y presencia de diarrea	27
4.	Diseño Epidemiológico	27
5.	Análisis Estadístico	28
IV.	RESULTADOS	29
V.	DISCUSIÓN	32
VI.	CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	36
VII.	LITERATURA CITADA	37

RESUMEN

El presente trabajo evaluó la presencia de *Cryptosporidium* spp. en alpacas y su relación con las variables diarrea y relación madre/cría, durante la temporada de parición de alpacas del 2011. Se estudiaron muestras de heces de 1650 alpacas, 825 madres y 825 crías de hasta 15 días de edad, de las localidades de Keyosenca, Colores, U.N.A. Chuquibambilla y Santa Rosa en la provincia de Melgar del departamento de Puno. Se realizó la coloración de las muestras utilizando la tinción de Ziehl–Neelsen Modificado y examinadas en un microscopio para su diagnóstico. Los resultados se evaluaron en tablas de contingencia, con intervalos de confianza del 95%, los datos se analizaron utilizando una regresión logística múltiple. En este análisis no se encontró relación entre la presencia de diarrea (líquida y pastosa) con la presencia de *Cryptosporidium* spp. La prevalencia que se encontró en las crías fue de 5%, porcentaje que se puede considerar como relativamente bajo. En el caso de las madres la prevalencia que se encontró fue del 11%. Las crías y sus madres se muestrearon a los 15 días de la parición, tiempo después de la depresión inmune periparto lo cual nos indicó que en este estudio la presencia de *Cryptosporidium* en las madres no es un factor de riesgo para la presentación de *Cryptosporidium* en las crías. La baja prevalencia de *Cryptosporidium parvum* encontrada en este estudio, puede deberse a buenas condiciones de manejo, como la rotación periódica de dormideros, la utilización de estercoleros o la ingestión de calostro después del parto. Al no encontrarse en este estudio relación madre/cría con la presencia de *Cryptosporidium* se sugiere estudiar la prevalencia de *Cryptosporidium* en las alpacas madres y las crías durante la depresión inmune periparto, secuenciando las cepas para ver si existe relación entre los *Cryptosporidium* de las madres y sus crías.

ABSTRACT

This study evaluated the presence of *Cryptosporidium* spp. in alpacas and their relationship with the variables diarrhea and mother / calf relationship, during the calving season alpacas 2011. 1650 stool samples alpacas, 825 mothers and 825 pups were studied up to 15 days old, the towns of Keyosenca, Colores, U.N.A. Chuquibambilla and Santa Rosa in the province of Melgar department of Puno. The color of the samples using the Ziehl-Neelsen modified and examined under a microscope for diagnosis was made. The results were evaluated in contingency tables, with confidence intervals of 95%, the data were analyzed using multiple logistic regression. In this analysis no relationship between the presence of diarrhea was found (liquid and pasty) with the presence of *Cryptosporidium* spp. The prevalence was found in the offspring was 5%, which can be considered as relatively low. In the case of mothers who found the prevalence was 11%. The pups and their mothers were sampled after 15 days of calving time after immune depression peripartum which we pointed out that in this study the presence of *Cryptosporidium* in mothers is not a risk factor for the presentation of *Cryptosporidium* in young. The low prevalence of *Cryptosporidium parvum* found in this study may be due to good management, and the periodic rotation of roosts, the use of dung or ingestion of colostrum after birth. Not found in this study regarding mother / calf with *Cryptosporidium* suggested studying the prevalence of *Cryptosporidium* in mothers and offspring alpacas during the peripartum immune depression, sequencing strains to see if there is a relationship between *Cryptosporidium* mothers and their young.

LISTA DE CUADROS

Cuadro 1.	Especies de <i>Cryptosporidium</i> spp. y rango de hospedadores	pág. 6
Cuadro 2.	Especies de <i>Cryptosporidium</i> y las dimensiones de sus ooquistes	pág. 8
Cuadro 3.	Especies de <i>Cryptosporidium</i> que afectan a los rumiantes, sus dimensiones y edad más susceptible	pág. 9
Cuadro 4.	Prevalencia de <i>C. parvum</i> encontrada en alpacas crías en 7 departamentos del Perú	pág. 12
Cuadro 5.	Especies de <i>Cryptosporidium</i> spp. que pueden ser encontradas en alpacas de diferentes edades y dimensiones de sus ooquistes.....	pág. 28
Cuadro 6.	Prevalencia de <i>Cryptosporidium</i> spp en las muestras de alpacas neonatas	pág. 29
Cuadro 7.	Prevalencia de <i>Cryptosporidium</i> spp según tipo de heces	pág.29
Cuadro 8.	Tamaño de ooquistes de <i>Cryptosporidium</i> spp observados en alpacas neonatales positivas, mediante tinción ZNM	pág.30
Cuadro 9.	Prevalencia de <i>Cryptosporidium</i> spp en las muestras de alpacas madres	pág. 30
Cuadro 10.	Prevalencia de <i>Cryptosporidium</i> spp en alpacas madres según el tipo de heces	pág.30
Cuadro 11.	Tamaño de los <i>Cryptosporidium</i> spp observados en alpacas madres positivas	pág. 31

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. CICLO BIOLOGICO DEL *Cryptosporidiumparvum* **pág. 5**

Figura 2. Ovino recién nacido con signos de criptosporidiosis (Nótese la severa deshidratación y cola y el tren posterior sucios por la diarrea) **pág. 14**

Figura 3. Atrofia de las vellosidades intestinales por *Cryptosporidium*spp. **pág. 14**

I. INTRODUCCIÓN

La crianza de camélidos sudamericanos es la principal actividad de producción de las comunidades campesinas de las zonas alto andinas (FAO, 2005). La estrategia utilizada por los productores es la crianza y producción de camélidos sudamericanos, para proveerse de los productos necesarios para sobrevivir. En zonas superiores a los 4,000 msnm, donde la producción agrícola es mínima, la producción pecuaria se constituye como la principal actividad económica con la crianza de alpacas y llamas y en algunos casos ovinos y vacunos (MINAG, 2007).

La alpaca destaca como especie estratégica entre los camélidos sudamericanos, gracias a la comercialización de su carne y fibra. La carne de alpaca es consumida por su alto valor nutritivo y bajo porcentaje de grasa. Por su lado, la fibra de alpaca es muy apreciada por su gran calidad. Estas características las alcanzan aprovechando eficientemente los escasos nutrientes disponibles en la región (FAO, 2005). El Perú posee el 87% de la población mundial de alpacas y los principales departamentos productores son: Puno (58.5%), Cusco (11.4%), Arequipa (9.4%), Huancavelica (6.8%) y Ayacucho (4.6%) (MINAG, 2007).

Las enteritis y las neumonías agudas se consideran la causa principal de la morbilidad y mortalidad neonatal de camélidos sudamericanos en las regiones andinas de Sudamérica. Entre las enteritis, la ocasionada por *Cryptosporidium* es una de las más significativas por afectar a animales recién nacidos, los que no cuentan con un sistema inmune totalmente desarrollado. En este sentido, la presencia del *Cryptosporidium* en camélidos sudamericanos se reportó recién a fines de los ochenta y una década después se estableció su asociación con la diarrea neonatal de las alpacas mediante estudios transversales (López, 1997).

La información que se tiene de los diversos factores que influyen en la presentación de la criptosporidiosis en las alpacas aún está incompleta. Esto motivó a diseñar un estudio epidemiológico para esclarecer si la presencia de *Cryptosporidium parvum* en alpacas madres está relacionada con la presencia de *Cryptosporidium parvum* en las crías. Por ello, los objetivos del presente trabajo fueron evaluar la presencia de *Cryptosporidium* en alpacas crías y madres y evaluar si la presencia de *Cryptosporidium* en las madres es un factor de riesgo para la presentación de

criptosporidiosis en las crías del Departamento de Puno, para lo cual se tomaron muestras de heces de alpacas madres e hijas de estancias alpaqueras del departamento de Puno y se analizaron empleando la tinción de Ziehl-Neelsen Modificado, mientras que los resultados se analizaron mediante una Regresión Logística.

La escasa información que se tiene de los diversos factores que influyen en la presentación de la criptosporidiosis en las alpacas llevó a diseñar un estudio epidemiológico para esclarecer el papel de la madre en la epidemiología de la criptosporidiosis en distintas regiones del Perú. Por ello, el objetivo del presente trabajo fue establecer la relación madre-cría en la presentación de la criptosporidiosis en las crías, para lo cual se tomaron muestras de heces de alpacas madres e hijas de estancias alpaqueras del departamento de Puno y se analizaron empleando la tinción de Ziehl-Neelsen Modificado, mientras que los resultados se analizaron mediante una Regresión Logística.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

1. Generalidades

El *Cryptosporidium* fue descubierto por Tyzzer en 1907, en las criptas gástricas de un ratón. Pero, no fue sino hasta 1979 que fue descrito por primera vez en pacientes con SIDA (Olay, 1997). El género *Cryptosporidium* posee diversas especies y se clasifica junto a los denominados coccidios. Según una revisión hecha por Xiao et al., (2004) el *Cryptosporidium* mantiene la siguiente clasificación:

Phylum Apicomplexa,

Clase Sporozoa,

Orden Eucoccidiida,

Familia Cryptosporidiidae

Género *Cryptosporidium*

El *Cryptosporidium* es un parásito común y que puede tener varias localizaciones. Es considerado un patógeno de distribución cosmopolita (Chermette y Boufassa-Ouzrout, 1988; Cordero del Campillo y Rojo Vázquez, 1999). Por otro lado, es un parásito que se ubica en la mucosa de diversos órganos, como en la tráquea, sacos aéreos, mucosa intestinal, gástrica y cloacal, según la especie de *Cryptosporidium* y el hospedador (Rojas, 2004).

El *Cryptosporidium parvum* ocasiona una enfermedad oportunista, autolimitante y que comparte características con otras enfermedades entéricas. Es autolimitante, porque se erradica por sí sola, tanto en personas (Olay, 1997) como en animales inmunocompetentes, por efectos de una respuesta inmune sistémica y mucosal (Rojas, 2004). No obstante, en pacientes inmunosuprimidos, la infección es severa (Olay, 1997). Además, es una enfermedad zoonótica, que se caracteriza por producir diarrea acuosa, deshidratación y pérdida de peso en animales neonatos y en hospedadores inmunodeficientes. Es de especial importancia en animales neonatos, sobre todo en los que no han consumido calostro y que aún no tienen el sistema inmune debidamente desarrollado (Soares, 2003).

La vía de transmisión de la criptosporidiosis, la morbilidad y mortalidad pueden variar. La enfermedad se transmite fundamentalmente por la ingestión de agua y alimentos contaminados con ooquistes. Además, algunos autores mencionan a la inhalación como otro mecanismo probable de transmisión (Weitz, 1993; Avery et al., 2007). Por otro lado, ocasiona una morbilidad alta y una mortalidad baja. Sin embargo, la mortalidad puede ser alta cuando se asocia a uno de los enteropatógenos del complejo de la diarrea neonatal como son el *Clostridium perfringes*, *E. coli*, *Eimeria macusaniensis* y la *Giardia intestinalis* (Chermette y Boufassa – Ouzrout, 1988; Angus, 1990; Rojas, 2004).

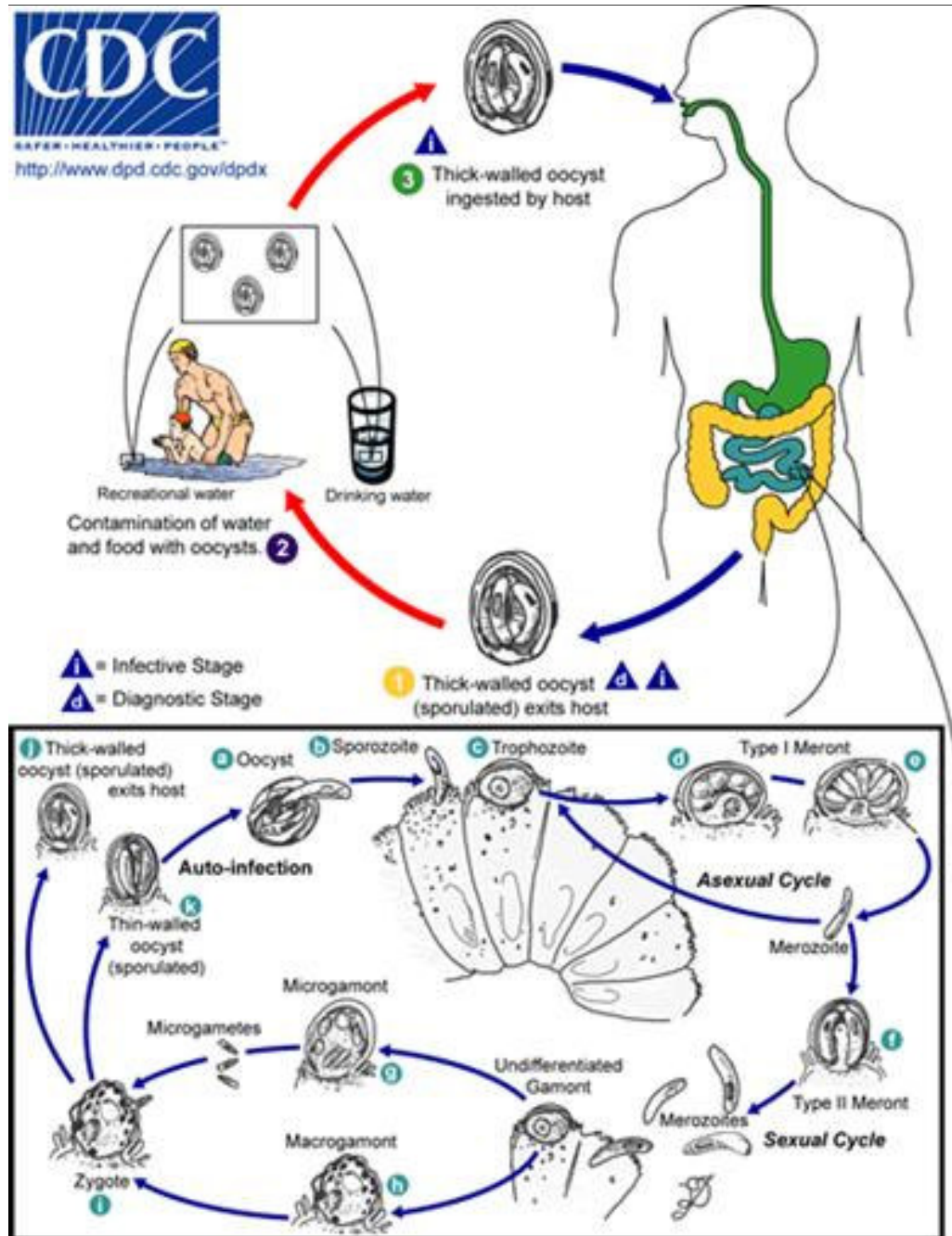
2. Ciclo Biológico:

El *Cryptosporidium* tiene un comportamiento monoxénico (Tzipori, 1988), vale decir que puede completar todo su desarrollo en un solo hospedador. Por lo tanto, su ciclo biológico es similar al de otros coccidios monoxénicos, culminando con la formación del ooquiste. El estadio infectivo es el ooquiste recién eliminado, pues ya sale al exterior esporulado, conteniendo cuatro esporozoitos en su interior. (Weitz, 1993).

El ciclo del parásito empieza cuando las diversas especies de animales ingieren los ooquistes esporulados eliminados en las heces. Una vez producida la ingestión de los ooquistes, con el agua o alimentos contaminados, estos se desenquistan en el tracto gastrointestinal del hospedador, de esta manera se liberan los cuatro esporozoitos de su interior. Algunos factores que favorecen el desenquistamiento son: 1) la temperatura corporal de los mamíferos, en torno 37°C, 2) las sales biliares y, posiblemente, 3) la tripsina (Cordero del Campillo, 1999). El ciclo continúa cuando los esporozoitos alcanzan el borde ciliado de los enterocitos y son englobados por la membrana de la célula hospedadora, la que se invagina y encapsula al parásito en el interior de una vacuola parasitófora (Holland, 1990), que es de tipo extra citoplasmática (Rojas, 2004).

El desarrollo del *Cryptosporidium* puede dar lugar a la formación de ooquistes de pared gruesa y delgada. La mayoría de los cigotos maduros desarrollan una cubierta externa resistente y se transforman en ooquistes infectantes, con una pared gruesa (Acha y Szyfres, 2003), (alrededor de 80 % del total), los cuales salen del hospedador con las heces y contaminan el medio ambiente, facilitando la transmisión y diseminación de la enfermedad entre los hospedadores. El resto de los cigotos maduros (20%) forman los ooquistes de pared delgada, que se rompen con facilidad, generándose una autoinfección sin abandonar el intestino y se reinicia el ciclo de manera endógena (Stephen et al., 2001). Ver Figura 4

Figura 4. CICLO BIOLÓGICO DEL *Cryptosporidium parvum*



Fuente: CDC Atlanta 2007

3. Especies y Características Morfológicas:

Los ooquistes de *Cryptosporidium* sp pueden ser pequeños y medir de 4 a 6 μm de diámetro, mientras que los ooquistes más grandes miden de 5.6 a 7.4 μm de diámetro (

Cuadro 1), según sea la especie. En ambos casos los ooquistes son de forma esférica, presentan una membrana delgada compuesta de una sola capa de 0.5 μm de grosor y en su interior contiene cuatro esporozoitos desnudos, es decir sin esporoquiste (Gorman, 1987; Atias, 1991; Vásquez et al., 1998). En particular, los ooquistes de *Cryptosporidium parvum* presentan medidas en promedio de 4.5 – 5.5 μm (O'Donoghue, 1995; Xiao et al., 2004) o entre 4-6 μm de diámetro (Fayer et al., 2000; Kosek et al., 2001; Ramírez et al., 2004).

Cuadro 1. Especies de *Cryptosporidium* spp. y rango de hospedadores

Especies	Hospedadores	Autor
<i>C. parvum</i> *	<i>Mus musculus</i> (ratón)	Tyzzzer (1912)
	<i>Bos taurus</i> (bovino)	Panciera <i>et al.</i> (1971)
	<i>Homo sapiens</i> (humanos)	Nime <i>et al.</i> (1976)
	<i>Sus scrofa</i> (cerdo)	Kennedy <i>et al.</i> (1977)
	<i>Ovis aries</i> (ovino)	Barker <i>et al.</i> (1974)
	<i>Capra hircus</i> (caprino)	Tzipori <i>et al.</i> (1981)
	<i>Equus caballus</i> (caballo)	Snyder <i>et al.</i> (1978)
<i>C. hominis</i>	<i>Homo sapiens</i> (humanos)	Morgan-Ryan <i>et al.</i> (2002)
<i>C. muris</i>	<i>Mus musculus</i> (ratón)	Tyzzzer (1910)
	<i>Homo sapiens</i> (humanos)	Katsumata <i>et al.</i> (2000)
<i>C. nasorum</i>	<i>Naso lituratus</i> (pez)	Hoover <i>et al.</i> (1981)
<i>C. molnari</i>	<i>Sparus aurata</i> y <i>Dicentrarchus labrax</i> (pez)	Alvarez-Pellitero <i>et al.</i> (2002)
<i>C. meleagridis</i>	<i>Meleagris gallipavo</i> (pavo)	Slavin (1955)
	<i>Homo sapiens</i> (humanos)	Morgan <i>et al.</i> (2000)
<i>C. baylei</i>	<i>Gallus gallus</i> (pollo)	Current <i>et al.</i> (1986)
	<i>Ellaphe guttata</i> (serpiente)	Levine (1980)
<i>C. serpentis</i>	Diferentes especies de lagartos	Xiao <i>et al.</i> (2004)

	<i>Sanzinia madagascarensus</i> (Boa de Madagascar)	Xiao <i>et al.</i> (2004)
	<i>Cavia porcellus</i> (cuy)	Vetterling <i>et al.</i> (1971)
<i>C. wrairi</i>	<i>Felis cati</i> (gato)	Iseki (1979)
	<i>Homo sapiens</i> (humanos)	Pieniazek <i>et al.</i> (1999)
<i>C. felis</i>	<i>Canis familiares</i> (perro)	Wilson (1983) Fayer <i>et al.</i> (2001)
	<i>Homo sapiens</i> (humanos)	Morgan <i>et al.</i> (2000)
<i>C. canis</i>	<i>Bos taurus</i> (bovino)	Lindsay (2000)
<i>C. andersoni</i>	<i>Eumeces schneideri</i> (lagarto)	Koduela <i>et al.</i> (1998)
	Diferentes especies de lagartos	Xiao <i>et al.</i> (2004)
<i>C. saurophilum</i>	Diferentes especies de serpientes	Xiao <i>et al.</i> (2004)

* Hospedadores comúnmente reportados

Fuente: Xiao *et al.* (2004)

Hasta hace pocos años se conocía sólo de la existencia de 3 especies de *Cryptosporidium* que afectaban a los rumiantes. Las tres especies identificadas eran *C. parvum*, *C. andersoni* y *C. bovis*. El *C. bovis*, que parasita el intestino de bovinos jóvenes, tiene ooquistes que miden aproximadamente 4.9 x 4.6 µm (Fayer *et al.*, 2005). El *C. andersoni*, que afecta mayormente a bovinos adultos, se localiza en la mucosa del estómago y presenta ooquistes ovoides de 7.4 x 5.6 µm. Por su lado, el *C. parvum*, que afecta a los terneros y a todos los rumiantes recién nacidos, es de localización intestinal y posee ooquistes esféricos u ovoides de menor tamaño, aproximadamente entre 4.5 – 5 µm (Xiao *et al.*, 2004).

Los estudios moleculares recientes han demostrado la existencia de nuevas especies que afectan a los rumiantes. Entre ellas está el *Cryptosporidium ryanae*. Se ha informado que este genotipo existe de manera generalizada en el ganado bovino en todo el mundo. Esta especie fue aislada de ciervos, cuyos ooquistes son similares a los de *C. parvum* y *C. bovis*, pero más pequeños (Cuadro 2 y Cuadro 3) (Fayer *et al.*, 2008).

Cuadro 2. Especies de *Cryptosporidium* y las dimensiones de sus ooquistes

Especies de <i>Cryptosporidium</i>	Dimension de los Ooquistes (µm)	Sitio de Infeccion	Hospedador
<i>C. andersoni</i>	5.0 – 6.5 x 6.0 - 8.1	Estómago	Bovinos, camellos (2)/(3)
<i>C. baileyi</i>	4.6 x 6.2	Tráquea, bursa de Fabricio, cloaca	Gallinas, pavos (1)/(4)
<i>C. bovis</i>	4.76 - 5.35 x 4.17 - 4.76	Intestino delgado	Bovinos (3)
<i>C. ryanae</i>	3.16 x 3.73	Intestino delgado	Bovinos (3)
<i>C. ubiquitum</i>	4.71 – 5.32 x 4.33 – 4.98	Intestino delgado	Rumiantes domésticos y salvajes, humano (2)/(3)
<i>C. parvum</i>	4.5 x 5.5	Intestino delgado	Rumiantes domésticos, humanos (2)/(3)
<i>C. canis</i>	4.95 x 4.71	Intestino delgado	Caninos, humanos (4)
<i>C. fayeri</i>	4.5 - 5.1 x 3.8 - 5.0	Epitelio intestinal	Canguro rojo (1)
<i>C. felis</i>	4.5 x 5	Intestino delgado	Gatos (1)/(4)
<i>C. galli</i>	8.5 - 8.8 x 6.2 - 6.4	Pro ventrículos	Aves (1)/(4)
<i>C. hominis</i>	4.5 x 5.5	Intestino delgado	Humanos, monos (4)
<i>C. macropodum</i>	no proporcionado	Intestino	Canguro gris
<i>C. meleagridis</i>	4.0 - 4.5 x 4.6 - 5.2	Intestino delgado	Pavos, humanos (4)
<i>C. molnari</i>	4.72 x 4.47	Estómago	Peces (1)
<i>C. muris</i>	5.6 x 7.4	Estómago	Roedores, mamíferos (3)
<i>C. scophthalmi</i>	3.7 - 5.03 x 3.03 - 4.69	Epitelio y lumen intestinal	Peces (1)
<i>C. serpentis</i>	4.8 - 5.6 x 5.6 - 6.6	Estómago	Serpientes, lagartijas
<i>C. suis</i>	5.05 x 4.41	Intestino delgado	Cerdos, humanos (3)
<i>C. xiaoi</i>	2.9 x 4.4	Desconocido	Ovinos (5)
<i>C. bahrain</i>	4.2 - 5.2 x 4.4 - 5.6	Intestino y mucosa cloacal	Lagartijas (1)
<i>C. wrairi</i>	4.0 - 5.0 x 4.8 - 5.6	Intestino delgado	Cobayos (1)

Fuente: 1) Luján, Garbossa, 2008; 2) Xiao et al., 2004; 3) Fayer et al., 2005; 4) Fayer et al., 2008; 5) Fayer et al., 2009.

Cuadro 3. Especies de *Cryptosporidium* que afectan a los rumiantes, sus dimensiones y edad más susceptible

Especies de <i>Cryptosporidium</i>	Dimension de los Ooquistes (µm)	Edad Susceptible	Hospedador
<i>C. andersoni</i>	5.0 – 6.5 x 6.0 - 8.1	Adultos	Bovinos, camellos (2) Rumiantes domésticos y salvajes (1)/(2)
<i>C. ubiquitum</i>	4.71 – 5.32 x 4.33 – 4.98	Jóvenes	Rumiantes domésticos, humanos (1)
<i>C. parvum</i>	4.5 x 5.5	Neonatos	Ovino (3)
<i>C. xiaoi</i>	2.9 x 4.4	Neonatos	

1) Fayer et al., 2005; 2) Fayer et al., 2008; 3) Fayer et al., 2009.

Otra especie que se ha reportado en rumiantes es el *Cryptosporidium ubiquitum*. En estudios realizados en el Reino Unido y Australia se encontró una prevalencia alta de este genotipo (antes denominado *Cryptosporidium* genotipo *cervine*) en los ovinos implicados como fuente de infección (Santin, 2007). Así mismo, las evidencias actuales sugieren que esta especie tiene una amplia gama de hospedadores y potencial zoonótico (Wong, 2006; Santin, 2007) (Ver Cuadro. N°2). Es más, uno de los últimos estudios de epidemiología molecular realizados en alpacas en el Perú reporta el hallazgo de esta especie en animales jóvenes (Gomez - Couzo et al., 2012).

Cryptosporidium macropodum es una nueva especie que se ha reportado recientemente en mamíferos. Esta nueva especie se encuentra en las heces de canguros (*Macropus* sp.) y sus ooquistes son morfológicamente indistinguibles de otros ooquistes encontrados en mamíferos. Esta especie de *Cryptosporidium* parece ser muy específica, porque hasta la fecha sólo se ha encontrado en marsupiales (Power y Ryan, 2008).

4. Epidemiología:

La criptosporidiosis es una enfermedad gastroentérica que afecta en diversos grados a los humanos. La enfermedad afecta más severamente a niños, ancianos y, principalmente, a los que presentan inmunodeficiencia. La prevalencia es de 13.1% y en niños menores de diez años es de

58.3% (Rodríguez Ferrero et al., 2010). Por otro lado, se ha encontrado que la prevalencia en humanos que están relacionados con animales puede ser alta, como sucede en humanos involucrados con el cuidado de camellos, donde la prevalencia puede llegar a 24%, (Sazmand et al., 2012).

La prevalencia de la criptosporidiosis ha sido estudiada en la mayoría de las especies domésticas. Por ejemplo, la prevalencia en becerros, con una edad entre 7-21 días, puede ser tan alta como 48% (Oscar, 2010). Asimismo, la prevalencia en camellos es de 20.33 % en animales de 4 años a más (Sazmand et al., 2012). Sin embargo, la prevalencia de la criptosporidiosis puede variar según los factores de riesgo asociados a la enfermedad.

Entre los factores que influyen en la variación de la prevalencia se encuentran el área geográfica en asociación con factores como la edad del hospedador, estación del año, la especie involucrada, entre otros. En China, en terneros de 3 a 11 meses fue más común ver *C. andersoni* que *C. bovis* (Wang et al., 2011). En la República Checa, la prevalencia para *C. parvum* fue 25.8% en terneros recién nacidos y de 8% a 17.8% para *C. andersoni* en animales jóvenes (Kvác et al., 2006). Igualmente, en Dinamarca y Estonia también se encontró una distribución similar de las especies de *Cryptosporidium*. Al otro lado del mundo, en Estados Unidos, *C. bovis* fue la especie predominante en terneros ya destetados (Santín et al., 2008).

Existe una elevada variabilidad de la prevalencia de *Cryptosporidium* durante las diferentes estaciones del año. Algunos estudios reportan una asociación entre prevalencias altas (con una elevada excreción de ooquistes) con la temporada de nacimientos de becerros (Oscar, 2010). Por otro lado, los terneros criados al pastoreo durante todo el año tienen una menor probabilidad de infectarse con *C. andersoni*, que los terneros mantenidos estabulados durante el invierno (Kvác et al., 2006).

La prevalencia de *Cryptosporidium* puede variar significativamente entre sistemas de crianza. Por ejemplo, existe una mayor prevalencia de *C. parvum* en boxes individuales, que en los establos, pero una prevalencia mayor de *C. andersoni* en animales que permanecen en establos, que en los que están bajo crianza extensiva. La prevalencia en establos lecheros puede ser de 27.1% para *C. parvum* y 0.9 % para *C. andersoni* en terneros no destetados y de 33% para *C. andersoni* y 0% para *C. parvum* en terneros ya destetados. De manera similar, en establos de ganado de carne, en terneros no destetados puede ser de 0.8% para *C. parvum* y de 0.3% para *C. andersoni*, pero en terneros ya destetados es de 21.2% para *C. andersoni* y 0% para *C. parvum* (Kvác et al., 2006).

Los estudios de criptosporidiosis han demostrado que la prevalencia varía según la especie de *Cryptosporidium* y la edad de los animales. En un estudio longitudinal de la criptosporidiosis, realizado en diferentes grupos etarios durante cuatro años, se demostró que el 85% de los animales sin destetar, entre 5 y 60 días, estuvieron infectados predominantemente por *C. parvum* y que en el 55% y 31% de los terneros ya destetados, entre 3 y 11 meses, predominaron el *C. bovis* y el *C. ryanae*, respectivamente. En vaquillas de 1- 2 años, el 44% estuvo infectado con *C. andersoni* y 35% con *C. bovis*. Finalmente, el 65% de las vacas lecheras, de 3 años a más, estuvieron infectadas con *C. andersoni* (Fayer et al., 2006).

La prevalencia de *C. parvum* en rumiantes se puede considerar relativamente similar. El parásito es frecuente en el ganado, bovino, ovino y caprino, presentando prevalencias similares (Cordero del Campillo, 1999). En bovinos la prevalencia puede llegar hasta un 59%. En ovejas y cabras va de 4.8% a 77.4%, dependiendo del lugar y la técnica usada para el diagnóstico. Trabajos realizados en China encontraron una prevalencia de 14.6% en ovejas (Shen et al., 2011). En España fue de 59% en corderos y 7.8% en ovejas (Causape et al., 2002) y en cabritos fue del 70%, con elevados porcentajes de mortalidad (Clavel, 1996). En Brasil fue de 4.8% en cabras lecheras (Bomfim et al., 2005).

Las alpacas son susceptibles a un gran número de enfermedades cuya importancia varía de acuerdo al sistema de crianza y al fundo alpaquero (Moro, 1971). Estudios epidemiológicos realizados en el altiplano norteño de Chile demostraron que este parásito está presente en alpacas y llamas menores de dos semanas de edad y que la presencia del parásito está en un 16.7% y 20% respectivamente (Rojas et al., 1988). Los primeros estudios de la criptosporidiosis en camélidos sudamericanos no tomaron en cuenta la edad de los hospedadores. Estos estudios se realizaron tanto en animales adultos como en crías (Rojas, 1984). Sin embargo, desde 1995 se comenzaron los estudios de la enfermedad en animales recién nacidos. En Cuzco se realizó un estudio piloto con 241 crías de alpaca y se encontró que el 10% era positivo a *Cryptosporidium*. Posteriormente, en 1996 se continuó el estudio, pero esta vez con 5, 163 muestras de crías, de 1 a 15 días, en 7 departamentos del Perú. Se encontró que la prevalencia variaba de 7 a 23% (Cuadro 4), dependiendo de la edad y del lugar de origen (López-Urbina et al., 2009).

Cuadro 4. Prevalencia de *C. parvum* encontrada en alpacas crías en 7 departamentos del Perú

DEPARTAMENTOS (NUMERO REBAÑOS MUESTREADOS)	PREVALENCIA (%)	LIMITES DE CONFIANZA
Arequipa (37)	86/940 (9)	7.3-11.0
Ayacucho (13)	46/672 (7)	4.9-8.8
Cuzco (8)	62/686 (9)	6.9-11.2
Huancavelica (18)	140/639 (22)	18.7-25.1
Junín (7)	125/1,030 (12)	10.1-14.1
Pasco (16)	55/526 (10)	7.8-13.1
Puno (6)	152/670 (23)	19.5-25.9
Total	666/5163 (13)	12.0-13.8

Fuente: López-Urbina et al. (2009)

En muestras de crías de llamas y alpacas con diarrea, menores de 7 meses de edad y remitidas a la universidad de Oregón, se encontró un 9% de prevalencia de *Cryptosporidium parvum* (Cebra et al. 2003). Así mismo, a la Universidad Estatal de Ohio en muestras de heces diarreicas de 55 crías de llamas y alpacas menores de 4 meses de edad remitidas se encontró una prevalencia 25.9 % (Whitehead y Anderson. 2006). En muestras de 136 crías de llamas y alpacas con diarrea remitidas a un Laboratorio de Diagnóstico Veterinario en Inglaterra y Gales se encontró una prevalencia de 8.8 % (Twomey et al., 2008).

En relación a la prevalencia de *C. parvum* en terneros con diarrea, esta puede variar de 10 – 80%. Por otro lado, se ha observado rebaños de terneros donde la criptosporidiosis se da periódicamente y hasta un 14% de los animales aparentemente sanos pueden tener *C. parvum* (Chermette y Boufassa – Ouzrout, 1988).

Actualmente se sabe que tres especies de *Cryptosporidium* afectan a los bovinos y que no basta sólo la observación de los ooquistes para diagnosticar la especie de *Cryptosporidium* (Santín et al., 2004). Asimismo, se ha observado que en alpacas neonatas existe una mayor frecuencia de criptosporidiosis en los que presentan diarrea (14.78%) versus los aparentemente sanos (5.55%), lo que sugiere una asociación entre los animales que presentan infección por *C. parvum* y los que desarrollan cuadros de diarrea (Fernández, 1995).

Tradicionalmente, *C. parvum* fue considerada como la única especie responsable de la Cryptosporidiosis humana. Sin embargo, los resultados de recientes estudios biológicos y moleculares demostraron que *C. parvum* es un complejo de varias especies o genotipos que difieren en características genéticas, especificidad por el hospedador y otros aspectos biológicos (Morgan et al., 1999; Xiao et al., 2000). De esta forma, numerosos estudios han demostrado que dos especies de *Cryptosporidium*, *C. parvum* y *C. hominis*, son las responsables de la mayoría de las infecciones humanas. *C. meleagridis*, *C. canis*, *C. felis*, *C. suis*, *C. muris*, *C. uquitum*, *C. cuniculus* y los genotipos procedentes de ciervos y monos, también infectan a personas inmunocompetentes e inmunocomprometidas. *C. meleagridis* es la tercera especie en importancia, considerándose actualmente como parásito emergente (Gomez Couso, Ares E, 2011).

4.1. Criptosporidiosis en Rumiantes

Los rumiantes son muy receptivos a la infección por *Cryptosporidium parvum*. Este parásito es considerado como uno de los agentes etiológicos más comunes del síndrome de la diarrea neonatal (Oscar, 2010). La criptosporidiosis bovina afecta fundamentalmente a terneros menores de 4 semanas. El periodo de incubación oscila entre 2 y 10 días, y la diarrea persiste entre 2 y 14 días, coincidiendo con el periodo de latencia (Blandino et al., 1987).

La infección es menos frecuente en los rumiantes mayores de 1 mes. En éstos, habitualmente cursa de forma subclínica y con baja eliminación de ooquistes, aunque desde el punto de vista epidemiológico tienen gran interés como portadores asintomáticos (Díaz de Ramírez, 2002). La manifestación clínica característica de la criptosporidiosis es un síndrome diarreico agudo, acompañado de gran número de ooquistes (Ysamar, 2004). Los animales afectados eliminan heces no sanguinolentas, acuosas y abundantes y presentan deshidratación, debilidad, pérdida de peso y anorexia, lo que provoca un retraso en el crecimiento (Mann et al., 1986) (Ver Fig. 2).

En todos los estudios se ha demostrado que la presentación de *Cryptosporidium* está relacionada con diarrea en animales jóvenes. La criptosporidiosis afecta a corderos y cabritos, pero se sostiene que los cabritos son especialmente sensibles a *Cryptosporidium parvum*. En corderos y cabritos, la criptosporidiosis se observa entre la primera y la tercera semana de vida, y la diarrea tiene una duración aproximada de 4 días. (Prescott, 2000).

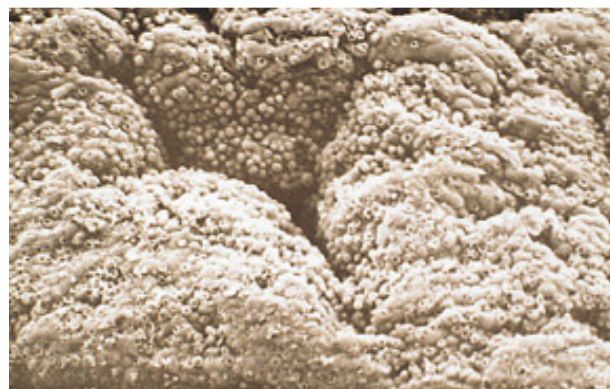
Figura 5. Ovino recién nacido con signos de criptosporidiosis (Nótese la severa deshidratación y cola y el tren posterior sucios por la diarrea)



Fuente: Machado et al. (2009)

En la necropsia se pueden observar diversas lesiones características. Las lesiones corresponden a una enteritis catarral aguda, con presencia de congestión y edema del intestino afectado, especialmente la parte final del yeyuno e íleon, que presentan un contenido amarillento y acuoso. Histológicamente, se observa atrofia de las vellosidades (Ver Fig. 3), con sustitución del epitelio dañado por un epitelio cúbico (Genta et al., 1993). En las criptas se mantiene el epitelio cilíndrico, pero con abundantes figuras mitóticas. La lámina propia aparece infiltrada de células inflamatorias, tales como neutrófilos, linfocitos y ocasionalmente eosinófilos (Current et al., 1991).

Figura 6. Atrofia de las vellosidades intestinales por *Cryptosporidium* spp.



Fuente: Mendez et al. (2006)

La morbilidad de la criptosporidiosis se considera alta, mientras que la mortalidad como baja. En las poblaciones afectadas por esta enfermedad, la morbilidad puede alcanzar el 100% (Current , 1988). Por el contrario, la mortalidad suele ser baja, si bien puede darse un porcentaje alto en infecciones mixtas de *Cryptosporidium parvum* con virus, como el rotavirus, o con bacterias enteropatógenas. Además, la infección cursa con diarrea en aproximadamente el 75% de los animales (Chacín-Bonilla, 2001).

4.2. Criptosporidiosis en Ganado Porcino:

El ganado porcino es especialmente receptivo a las infecciones por *Cryptosporidium parvum*. No obstante, en esta especie la parasitación se presenta habitualmente de forma subclínica. La cronología de la infección en porcinos es diferente de la observada en rumiantes, ya que es muy poco frecuente en lechones lactantes, detectándose con más frecuencia en la etapa post-destete y primeras fases de engorde (Bruzual, 1996). En esta especie, la inmunidad lactogénica proporcionada por las madres a los lechones, juega un papel muy importante. Así mismo, la escasa frecuencia con que las cerdas madres son parasitadas, ha sido señalada como justificadora de la baja prevalencia de la infección observada en lechones lactantes. (Chacín-Bonilla, 2001).

4.3. Criptosporidiosis en Animales de Compañía:

La afección por *Cryptosporidium* en animales de compañía se considera que es menos frecuente que en las especies de abasto. En perros la infección por *Cryptosporidium parvum* es generalmente asintomática, aunque cuando se presenta asociada al virus del distemper canino suele hacer manifestaciones clínicas de diarrea en cachorros (Blandino et al., 1987). En gatos la prevalencia es poco conocida y en animales con inmunodepresión, por los virus de la leucemia o de la inmunodeficiencia felina, la infección cursa con diarrea crónica. Así mismo, en gatos silvestres que padecen criptosporidiosis, algunas veces se puede observar diarrea, sobre todo en animales con edades comprendidas entre 10 días y 6 meses de edad (Xiao et al., 2000).

4.4. Criptosporidiosis en Equinos:

Los estudios de criptosporidiosis en equinos comenzaron asociando la infección a problemas del sistema inmune. La criptosporidiosis en potros de raza árabe fue inicialmente asociada a cuadros de inmunodeficiencia congénita en combinación con una infección por adenovirus. Posteriormente, fue señalada como causa primaria de diarrea en potros inmunocompetentes. Las manifestaciones

clínicas se presentan habitualmente en potros menores de 3 meses de edad. En este sentido, en potros inmunocompetentes de 2 a 15 días de edad, se han dado casos de elevada mortalidad, en las que el *Cryptosporidium* fue el único patógeno detectado (Clavel, 1996).

5. Fuentes de Contagio y Vías de Transmisión

En mamíferos la infección es adquirida por ingestión o inhalación del ooquiste infeccioso. La principal fuente de contaminación en los rumiantes domésticos son las heces diarreicas, excretadas por animales positivos a *Cryptosporidium* sp., especialmente en rumiantes neonatos (De Graaf et al., 1999, Ortega-Mora et al., 1999). En el caso de las alpacas, al igual que en otros rumiantes, la fuente de infección está asociada a la época de parición. Además, las alpacas adultas también podrían ser fuente de diseminación de la enfermedad, actuando estas como portadores asintomáticos (López, 1997), como se ha evidenciado en otras especies domésticas (Ortega-Mora, 1999; Acha y Szyfres, 2003).

6. Factores de Riesgo Asociados a la Presencia de *Cryptosporidium*

6.1. Factores Epidemiológicos Asociados al Parásito

Existen varias condiciones propias del parásito que influirían en la presentación de la criptosporidiosis. Se cree que la presencia de ooquistes autoinfectivos y el reciclamiento de merontes tipo I, influyen en el ciclo biológico de *C. parvum*, haciéndolo altamente infeccioso entre los hospedadores. Esta situación explicaría el porqué un pequeño número de ooquistes infecciosos puede producir una severa infección en el hospedador (Current, 1986; Troncoso, 1992, Juranek, 2000).

Los ooquistes de *C. parvum* pueden continuar viables en el medio ambiente durante muchos meses (Fayer et al., 2000). Las capas protectoras que poseen son las que le brindan resistencia ante temperaturas extremas, cloración y destrucción mecánica para que puedan mantenerse infectivas (Harp et al., 1996; Fayer et al., 2000; Xiao et al., 2001; Faubert y Litvinsky, 2002; Pokorny et al., 2002). La doble pared de los ooquistes de *C. parvum* les permite sobrevivir en el medio ambiente y mantener su capacidad infectante durante largos periodos de tiempo (Rojas et al., 1988).

Los ooquistes de *Cryptosporidium* son resistentes a la mayoría de desinfectantes utilizados en laboratorio (Castro-Hermida et al., 2006). Los ooquistes pueden ser 30 veces más resistentes al ozono y 14 veces más resistentes a la cloración que los quistes de otro enteropatógeno como la *Giardia duodenalis*, expuestos ambos a las condiciones (Ortega-Mora et al., 1999). No obstante, la acción del hidróxido de amonio al 5% o la formalina al 10% durante 18 a 24 horas, el vapor caliente, el peróxido de hidrógeno y la lejía comercial sin diluir destruyen al parásito (Moore, 1989; Xiao y Herd, 1994).

Los ooquistes de *C. parvum* son muy resistentes a condiciones del medio ambiente. En este sentido, los ooquistes son capaces de sobrevivir durante 6 a 12 semanas en el medio ambiente sin perder su poder infectivo, a una temperatura de -4°C y 4°C (Polack et al., 1983; Olson et al., 2004). Por otro lado, la desecación (Anderson, 1986) la congelación y una temperatura de 45°C durante 5 a 20 minutos producen un descenso en su capacidad infectante (Fayer et al. 1991).

6.2. Temperatura y Clima.

Los ooquistes de *Cryptosporidium* tienen un rango amplio de temperatura óptima para su desarrollo. Los ooquistes pueden soportar en el medio ambiente temperaturas de 10° a 25°C , rango que les permite mantener la infectividad durante un año (Fayer, 1994). Sin embargo, el cambio abrupto de temperatura hace que la viabilidad decrezca (Pokorny et al., 2002; Chen et al., 2007). En el caso de los climas que presentan brillo solar moderado y alta humedad permiten que el ooquiste se mantenga por mucho tiempo viable en el medio ambiente (Pokorny et al., 2002). Todo lo contrario sucede en climas con brillo solar intenso, directo y por muchas horas, pues causan la desecación del ooquiste (Fayer, 1994).

El clima de Puno es frío y seco, al ubicarse a orillas del lago el clima es temperado por la influencia del lago, En general, en el departamento de Puno la temperatura máxima media anual es de 21°C y la temperatura mínima es de -15°C . Las precipitaciones pluviales son anuales y duran generalmente entre los meses de diciembre a abril, aunque suelen variar en ciclos anuales, originando inundaciones y sequías, generalmente las precipitaciones son menores a 700 mm (SENAMHI, 2012).

6.3. Edad del hospedador.

El cuadro de la criptosporidiosis dependerá de la edad de los animales y de la especie involucrada. En este sentido, los animales neonatos son más susceptibles a la infección. Por otro

lado, la aparición de la resistencia animal se desarrolla con el incremento de la edad (Cordero del Campillo y Rojo-Vazquez, 1999; Aíslan y Gicik, 2001). En animales de 5 días a 2 meses de edad se produce un 85% de infecciones por *C. parvum* y solo un 1% se da en animales entre 3 a 11 meses de edad. En el caso de *C. bovis* y *C. andersoni*, las infecciones se dan en bovinos jóvenes y adultos, respectivamente (Santín et al., 2004).

La prevalencia de la criptosporidiosis dependerá de la edad de los animales y al periodo de prepatencia. La criptosporidiosis es más frecuente en terneros entre los 4 a 15 días de edad (Fayer y Ungar, 1996) y la eliminación de ooquistes se puede dar hasta los 3 meses de edad acompañado a cuadros diarreicos. La baja prevalencia de este parásito en animales menores de 4 días de edad se asocia a las características de su ciclo biológico, debido a que se requieren de 2 a 4 días de periodo pre patente, es decir, desde la infección hasta la eliminación del parásito en las heces (Troncoso, 1992).

6.4. Alimentación de la Cría.

La alpaca cría depende enteramente de la leche materna en los primeros días de vida. Luego, entre la tercera y cuarta semana de vida combina su dieta entre la leche materna y el pasto (Bustinza, 2000). Las alpacas tienen la conducta de depositar los excrementos en lugares determinados, formando los llamados estercoleros. Estos lugares tienen un papel importante en el control de las infecciones parasitarias. En las crianzas menos tecnificadas la contaminación de los pastos es alta debido a la elevada densidad y a la baja rotación de las canchas (FAO, 2005).

Los anticuerpos calostrales producidos en respuesta a la infección natural no tienen un efecto protector frente a la infección neonatal en terneros y corderos. Sin embargo, el calostro hiperinmune producido por inmunización de las madres con altos títulos de anticuerpos específicos puede proteger, de manera parcial infecciones concomitantes, y de este modo reducir la morbilidad de la infección por *Cryptosporidium* (Xiao y Herb, 1994, Cordero del Campillo, 1999). En terneros, los animales que ingieren calostro hiperinmune, eliminan menos ooquistes y tienen una diarrea menos intensa, aunque resultan receptivos a la infección (Ortega-Mora, 1996).

7. Signos Clínicos y Lesiones:

La criptosporidiosis se presenta con sintomatología entérica. El síntoma característico de la infección por *Cryptosporidium* es la diarrea profusa, aunque no es patognomónica para la enfermedad (Snodgrass y Angus, 1983). La diarrea es amarillenta, a veces sanguinolenta y pastosa, generalmente de consistencia acuosa y en algunos casos hay fiebre (Anderson y Bulgin, 1981). La morbilidad suele ser alta y la mortalidad baja. Sin embargo, la mortalidad puede ser alta cuando se asocia a uno de los enteropatógenos del complejo de diarrea neonatal (Chermette y Boufassa – Ouzrout, 1988; Angus, 1990; Rojas, 2004).

Las lesiones anatomopatológicas de la criptosporidiosis, que se observan en crías de alpaca infectadas experimentalmente, son similares a las descritas para otros rumiantes. Así, en crías se observa presencia de edema e hiperemia en los ganglios linfáticos mesentéricos. Además, casi todo el tracto intestinal, en especial el íleon, presenta congestión marcada, dilatación y presencia de líquido y gases. Al corte de las distintas porciones intestinales se observa severa alteración de la mucosa, hiperemia y presencia de abundante mucus (López, 1997).

En la criptosporidiosis los cambios histopatológicos aparecen después de 48 – 72 horas de iniciada la infección. El *C. parvum* se caracteriza por causar la disminución de la longitud de las vellosidades intestinales y fusión de las mismas mediante la formación de desmosomas. La mucosa intestinal puede evidenciar metaplasia, con células epiteliales en forma columnar baja, cuboidal y aun escamoso (O'Donoghue, 1995). Así mismo, en la lámina propia se puede observar dilatación de las criptas de Lieberkhün e infiltración de neutrófilos y células mononucleares (Foreyt, 1990).

8. Periodo de Incubacion:

El periodo pre patente y patente de la criptosporidiosis en alpacas recién nacidas fueron determinados experimentalmente. El periodo pre patente de la *Cryptosporidiosis* en camélidos sudamericanos recién nacidos es de 3 – 4 días y el periodo de patencia es de 11 a 14 días. Así mismo, se determinó que el pico de eliminación de ooquistes ocurre entre los días 7 a 10 post infección (López et al., 2001).

El periodo pre patente en ovejas y cabras también es de 3 a 4 días, aunque dependiendo de la edad y de la dosis infectante puede prologarse hasta 6 a 7 días (Fayer et al., 2000). El periodo pre patente en terneros se extiende por 5 días y es seguido de un periodo de liberación de ooquistes hasta el día 53 (Faubert y Litvinske. 2002).

Existe una relación inversa entre carga parasitaria infectante y periodo pre patente pues a menor carga parasitaria infectante el periodo pre patente se amplía; esto se debe a que la producción de ooquistes se considera dificultosa en una infección de menor carga parasitaria, porque los microgametos no son suficientes para que la fertilización se establezca (Matsui et al., 2001).

9. Diagnóstico:

La criptosporidiosis comparte signos clínicos con infecciones bacterianas y virales, por lo que su diagnóstico clínico es inviable. Puesto que no cuenta con signos patognomónicos, es necesario emplear pruebas específicas de diagnóstico que detecten los ooquistes. En este aspecto, son de gran utilidad las pruebas de tinción o las inmunológicas, como las “Fast Acid” o las de Inmunofluorescencia directa, respectivamente. Además, ambas son útiles como pruebas tamiz (“screening”) para estudios de epidemiología molecular.

Una de las pruebas de diagnóstico, entre las tinciones, más fácil y rápida de realizar es la de Ziehl–Neelsen Modificado (ZNM) (Ruiz – Santa – Duiteria, 2000). Antes de la popularización de las pruebas moleculares para el diagnóstico de la criptosporidiosis en humanos, un grupo de investigadores en el área de salud pública acordaron que la tinción de ZNM fuera utilizada como prueba estándar, ya que permite reconocer la morfología y determinar las medidas del ooquiste (Casemore, 1993). Es una prueba relativamente sencilla y de bajo coste, pero necesita personal entrenado.

Las técnicas inmunológicas representan una herramienta de gran valor para la detección de ooquistes o antígenos de *Cryptosporidium*. Dentro de las técnicas inmunológicas para la detección de ooquistes, las de inmunofluorescencia con anticuerpos monoclonales o policlonales (Urquhart, 2001) son las que presentan una mayor sensibilidad y especificidad, y desde fines de los 90 son las que más se utilizan en el diagnóstico en humanos (Ortega Mora, 1996). Por otro lado, existen métodos de detección de anticuerpos que no se han utilizado con frecuencia en rumiantes, debido a

que presentan problemas de especificidad. Entre estos están la Inmunofluorescencia Indirecta, el método de ELISA (Vela, 1995), el Western Blot, entre otras (Cordero del Campillo, 1999).

Los métodos de biología molecular actualmente son los más sofisticados que se utilizan para el diagnóstico de *Cryptosporidium*. Entre ellos, los más populares son los de amplificación, basados en la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), con la utilización de cebadores (primers) específicos para *Cryptosporidium*, que consiguen una alta sensibilidad y especificidad en la detección de ooquistes en muestras clínicas y ambientales (Jenkins et al., 1997; Urquhart, 2001). Hasta la actualidad, estas pruebas son de gran utilidad para los estudios de epidemiología molecular (Xiao et al., 2004).

Existen otros métodos para la identificación y para determinar la infectividad del parásito, que dan resultados definitivos y confiables. Uno de estos métodos es el ensayo con cultivo de tejidos (Slikfo et al., 1997), ya que reduce costos, permite un gran número de repeticiones y la obtención de datos cuantificables (Peters et al., 1989; Lorenzo-Lorenzo et al., 1993; Pokorny et al., 2002). También, se pueden utilizar técnicas complementarias, como la coloración vital y el desenquistamiento para determinar la viabilidad del ooquiste (Smith et al., 1989; Robertson et al., 1993; Belosevic et al., 1997).

10.Tratamiento:

El tratamiento de la criptosporidiosis se ha intentado con varias drogas, con resultados que no se pueden considerar del todo satisfactorios. Existen diversas drogas que han sido empleadas en distintas especies para el tratamiento, como los antibióticos paramomicina y decoquinato (Castro Hermida et al., 2002), lasalocid y lactato de halofunginona (Causape et al., 2002), azitromicina (Starkey et al., 2007), espiramicina (Urquhart, 2001), entre otros. Ninguna de estas drogas ha dado resultados totalmente exitosos, pero su uso se recomienda para disminuir la severidad de la enfermedad y reducir la contaminación ambiental. No obstante, el tratamiento de corderos acompañado de tratamiento de soporte ha sido exitoso en casos clínicos (Cordero del Campillo y Rojo – Vásquez. 1999).

La nitazoxanida es una droga que ha sido utilizada para probar su eficacia frente a la criptosporidiosis. Esta droga presenta una eficacia parcial en modelos animales, pues a pesar de reducir la eliminación de ooquistes, induce la diarrea (Ramírez et al., 2004). Sin embargo, se ha

demostrado que administrada a pacientes inmunocompetentes mayores de 12 años de edad, durante 3 días, es eficaz para controlar la diarrea y enteritis causadas por *Cryptosporidium* (Rossignol et al., 2006).

No existe un tratamiento específico para la criptosporidiosis en el rebaño. Por ello, el tratamiento de soporte toma vital importancia para evitar la deshidratación y el aumento de la tasa de morbilidad producida por la enfermedad. El tratamiento de soporte en corderos ha sido exitoso en casos clínicos. La primera medida es la administración oral o parenteral de soluciones de electrolitos principalmente sodio, junto con suficientes cantidades de glucosa, aminoácidos, potasio y cloruro; además debe ser isotónica y agradable al paladar de los animales (Cordero del Campillo, 1999). Se recomienda la restricción de productos lácteos, para evitar que la leche sin digerir llegue al intestino grueso, donde la microflora bacteriana intestinal podría producir diarrea de tipo fermentativo (Current, 1986).

11.Control:

El control de la criptosporidiosis dependerá en gran medida del sistema productivo. Cuando se presenta un brote de criptosporidiosis en animales estabulados se recomienda aplicar desinfectantes en las zonas contaminadas y separar a los animales enfermos de los sanos (Cordero del Campillo y Rojo – Vásquez. 1999). En general, se debe dar terapia de sostén a los animales enfermos, para evitar la deshidratación, y aplicar coccidiostatos (Mehlorn y Piekarski. 1993) o antibacterianos, para evitar complicaciones con infecciones secundarias.

En sistemas de producción intensiva, como primera estrategia de control se debe desinfectar la zona donde se mantienen los animales. Por tal motivo, se debe tomar en cuenta que los ooquistes de *C. parvum* son altamente resistentes a la mayoría de desinfectantes (Fayer et al., 1997). En este sentido, el amonio acuoso o gaseoso y el peróxido de hidrógeno reducen o eliminan la infectividad de los ooquistes, mientras que el ozono parece ser más efectivo contra los ooquistes en agua (Fayer y Xiao 2007). La zona de paridera se debe instalar en áreas desinfectadas y limpias, la humedad y temperatura de las instalaciones se deben controlar en lo posible (Fayer et al., 1997).

En general, el sistema extensivo de crianza tecnificada de alpacas utiliza estrategias de manejo, para evitar la propagación de enfermedades. En este sentido, los terrenos deben poseer buenos pastizales, deben estar ubicados en sitios bajos, abrigados y con poca pendiente y las zonas de los

dormideros deben rotarse regularmente. Además, los animales deben tener acceso a una buena fuente de agua. Así mismo, para la época de parición debe reservarse los mejores terrenos de pastizales para brindar una buena alimentación a las madres en los primeros días después del parto. Por el contrario, en el caso de los terrenos planos y arcillosos, estos predisponen a que se acumule el agua de las lluvias, aumentando la humedad de los suelos, lo cual beneficia la conservación de los ooquistes de *Cryptosporidium* en el medio ambiente (Bustinza, 2000).

Los probióticos son microorganismos no-patógenos viables que tienen un efecto en la prevención y tratamiento de patologías intestinales. El mecanismo general de acción del probiótico incluye la competencia de receptores en la superficie intestinal, estimulación del sistema inmune, excreción de sustancias antimicrobiales y la competencia con patógenos por nutrientes intraluminales (Duggan et al., 2002; Rolfe, 2000). Estos han sido considerados como una nueva y prometedora alternativa para el tratamiento de la criptosporidiosis, desde que son capaces de producir factores perjudiciales para los ooquistes de *Cryptosporidium*. Sin embargo, faltan más estudios para aceptar del todo esta hipótesis (Foster et al., 2003).

12. Prevención:

La prevención de la criptosporidiosis se da respetando las densidades máximas por unidad de área para cada especie animal. Sea una unidad de cría intensiva o extensiva, el fin es disminuir la carga parasitaria en el terreno y así minimizar el riesgo de generar un brote (Starkey et al., 2007). Así mismo, en el caso de animales de crianza extensiva se recomienda realizar rotación de dormideros, evitar los terrenos húmedos y la crianza mixta (Cordero del Campillo y Rojo – Vásquez. 1999).

Hasta el momento no existe una vacuna totalmente eficaz para prevenir la criptosporidiosis, a pesar de los múltiples estudios que se han realizado. La protección inmune contra el *C. parvum* requiere una respuesta mediada por células, debido a que los anticuerpos no tienen efecto sobre parásitos intracelulares (Chen et al., 1993, Wyatt et al., 1997). En este sentido, uno de los estudios pioneros en este campo probó una vacuna en animales neonatos infectados experimentalmente. La vacuna fue exitosa, más no cuando fue probada en campo (Harp et al., 1998). Los esfuerzos han continuado y ahora se cuenta con 2 péptidos (P15 y P23) que fusionados son un prospecto de vacuna que podría tener éxito en la prevención de la criptosporidiosis (Liu et al., 2010)

La inmunoglobulina Y ha demostrado tener eficacia para neutralizar ooquistes de *C. parvum*, a pesar que los anticuerpos no tienen efecto sobre parásitos intracelulares. Durante la fase temprana de la criptosporidiosis se expresa una glicoproteína de superficie inmunodominante denominada “P23”. El efecto de la actividad de los anticuerpos IgY contra la P23 fue evaluada administrando yema de huevos de gallinas hiperinmunes a humanos y a animales. Se encontró que el uso de la IgY de la yema de huevos de gallinas hiperinmunes puede ser un metodo adecuado para la inmunizacion pasiva contra la criptosporidiosis en humanos y animales. Ademas, la produccion de IgY contra la proteína recombinante P23 en gallinas es relativamente fácil de producir y a bajo costo (Shahbazi et al., 2009).

Para el control y prevención de la criptosporidiosis son importantes las medidas higiénicas de manejo que se tomen. Por ello, se recomienda destruir las formas externas del parásito y prevenir la transmisión entre animales y desde el medio ambiente al hospedador (De Graaf et al., 1999). Además, se recomienda la rotación de dormideros, una menor carga animal por pastizal (Bustinza, 2001) y evitar el contacto con animales de otras especies, que puedan ser portadoras potenciales de la enfermedad (Fayer et al., 1997). Adicionalmente, debido a que los tratamientos y vacunas aún no son del todo efectivos, se recomienda profundizar el entendimiento de la epidemiología del *Cryptosporidium*, para mejorar las estrategias de control y prevención (Shen et al., 2011).

El control biológico de los ooquistes de *Cryptosporidium* spp. es un tema que se viene investigando desde hace varios años. La reducción del número de ooquistes, que entran en la superficie del agua, ha sido asociada con tiras de vegetación de amortiguamiento (Atwill et al., 2002). Además, bajo condiciones experimentales se ha encontrado que los protozoos predadores y los rotíferos, que ocupan nichos en aguas de mar, ríos, lagos y estanques, ingieren ooquistes de *C. parvum* (Fayer et al., 2000; Stott et al., 2003). Por ello, se ha sugerido que la aplicación de un control biológico podría tener efectos benéficos potenciales para el control del *Cryptosporidium*.

III. MATERIALES Y METODOS

1. Lugar de Ejecución y Periodo de Duración:

Este trabajo fue realizado con muestras de heces de alpacas madres y sus respectivas crías, menores de 15 días de edad, tomadas durante la temporada de parición, entre los meses de febrero y marzo del 2011, en el departamento de Puno, en la provincia de Melgar, distritos de Ayaviri y Santa Rosa, en las localidades: Keyosenca, Colores, U.N.A. Chuquibambilla y Santa Rosa.

2. Descripción del Material Experimental:

Para el presente estudio se empleó un diseño de Caso Control que consideró tomar muestras de dos grupos etarios de alpacas: madres y sus crías menores de 15 días de edad del Banco de Especímenes del Laboratorio de Epidemiología y Economía Veterinaria, que procedían del muestreo realizado durante la temporada de parición de alpacas del año 2011. Se tomaron en total muestras de 1,650 animales, de las cuales 825 fueron madres y 825 crías. La información necesaria, consignada en el momento del muestreo, se obtuvo de la base de datos del Banco de Especímenes, entre los que se incluía edad, sexo, procedencia y si el animal presentaba o no diarrea. El criterio que se tomó para registrar si los animales tenían diarrea fue la presencia de heces en la zona perineal y la consistencia de las heces, las que podían ser líquidas o pastosas. Los animales que no presentaban diarrea tenían la zona perineal limpia y las heces consistentes.

3. Metodología

3.1. Recolección y Procesamiento de las Muestras:

3.1.1. Las muestras de alpacas tomadas del Banco de Especímenes del Laboratorio de Epidemiología y Economía Veterinaria fueron heces, las cuales fueron tomadas directamente del recto y fijadas en metanol el mismo día. Brevemente, las muestras fueron recolectadas con bolsas

plásticas debidamente rotuladas. De cada muestra se hizo un frotis sobre un portaobjetos identificado con marcador de vidrio, se dejó secar y se fijó con metanol absoluto durante 5 minutos. Una vez que las muestras estuvieron fijadas se envolvieron en papel platina y se remitieron a la Facultad de Medicina Veterinaria de la U.N.M.S.M. en Lima, donde se almacenaron en el Banco de Especímenes del Laboratorio de Epidemiología y Economía Veterinaria.

3.1.2. Después de seleccionar las muestras del Banco de Especímenes se les realizó la tinción de Ziehl–Neelsen Modificado (ZNM) descrita por (Henriksen y Pohlenz, 1982). El frotis de cada muestra se cubrió con fucsina básica fenicada durante 20 minutos. Luego se lavaron con agua corriente y se decoloraron con ácido sulfúrico (H₂SO₄) al 2% durante 20 segundos, agitando los portaobjetos constantemente. Se lavaron con agua corriente y se dejaron secar. El frotis se contrastó con verde malaquita al 5%, cubriendo la muestra durante 5 minutos. Luego se realizó un último lavado y se dejó secar. Se colocó una gota de aceite de inmersión sobre la muestra coloreada y luego se colocó un cubreobjeto de 22 mm. x 40 mm. Todas las muestras procesadas fueron examinadas en un microscopio de luz con objetivo de 40X y 100X para su diagnóstico y confirmación, respectivamente. Se tomó en cuenta el número de ooquistes por campo y la medida de estos (largo por ancho).

3.2. Criterio Diagnóstico:

3.2.1. Se tomó como referencia las características que presentan los ooquistes cuando las muestras son procesadas con la tinción de ZNM (Henriksen y Pohlenz, 1982). En general, los ooquistes de *Cryptosporidium* se observan como organismos esféricos u ovalados, de color rojo fucsia con algunas granulaciones oscuras en su interior, que contrastan con un fondo verde, cuando se usan los métodos tradicionales de diagnóstico, como la tinción de ZNM. Las muestras fueron consideradas positivas cuando se encontró al menos un ooquiste.

3.2.2. Los ooquistes se clasificaron según su tamaño (Fayer et al., 2000; Xiao et al., 2004), para lo cual se midieron con el programa LAS EZ de la cámara microscópica Leica ICC50, incorporada al microscopio Leica DM500. Como varias especies de *Cryptosporidium* (*C. parvum*, *C. bovis*, *C. ryanae* y *C. ubiquitum*) son morfológicamente similares, es más exacto referirse a ellas como especies “*C. parvum*-like” (especies semejantes a *C. parvum*) (Fayer 2004; Santín et al., 2004; Starkey et al., 2005; Silverias et al., 2009). En el caso de los CSA, hasta el momento solo se han confirmado molecularmente que están afectados por *C. parvum*, *C. ubiquitum* y *C. andersoni*. Por ello, el presente trabajo se basó en las dimensiones de los ooquistes para dar el diagnóstico de *C.*

andersoni y de “*C. parvum-like*”, en este último caso para las especies *C. parvum* y *C. ubiquitum*, como se puede apreciar en el Cuadro 5.

Cuadro 5. Especies de *Cryptosporidium* spp. que pueden ser encontradas en alpacas de diferentes edades y dimensiones de sus ooquistes

Especies de <i>Cryptosporidium</i> encontradas en alpacas	Dimensión de los ooquistes (en μm)	*Edad reportada
<i>C. parvum</i>	4.5 x 5.5	Mayormente en crías menores de 1 mes ¹
<i>C. ubiquitum</i>	4.71 – 5.32 x 4.33 – 4.98	En animales mayores de 1 mes ²
<i>C. andersoni</i>	5.0 – 6.5 x 6.0 - 8.1	En animales adultos ³

*¹ y ² Reportados molecularmente por: Steven *et al.* 2007¹, Gomez-Couzo 2012²,

³ Reportada por microscopía por: Ayala 2014³

3.3. Criptosporidiosis y presencia de diarrea

La relación entre la presencia de *Cryptosporidium* y la diarrea en alpacas recién nacidas y sus madres se estudió determinando la consistencia de las heces en el momento de la toma de muestra. Para determinar si el animal tenía o no diarrea se tomaron en cuenta los siguientes criterios: animales con heces líquidas o pastosas, con fibra de la zona perineal sucia con heces y con una marcada depresión y/o deshidratación.

4. Diseño Epidemiológico:

Para este estudio se empleó el diseño ecológico transversal, para estudiar la prevalencia de criptosporidiosis en las muestras tomadas de madres y crías del Banco de Especímenes. En este tipo de estudio se identifican individuos con y sin la presencia del parásito y luego se determina su estado con respecto a otras variables independientes (Rada, 2007).

5. Análisis Estadístico:

Las relaciones entre la presencia del parásito y otras variables como diarrea, madre/cría se evaluaron primero en tablas de contingencia, que presentaban las prevalencias con intervalos de confianza del 95%. Se desarrolló un modelo de simulación estocástico, para calcular las prevalencias y corregirlas mediante la sensibilidad y especificidad del diagnóstico de *Cryptosporidium* spp. empleando la tinción de ZNM. La prevalencia se calculó empleando simulaciones con la distribución beta (β) con los parámetros alfa (α) y beta (β), donde $\alpha = positivos + 1$ y $\beta = negativos + 1$. El modelo empleó distribuciones beta para el cálculo de la prevalencia y también consideró la fórmula de corrección de prevalencia según sensibilidad y especificidad (Ahlbon, 1990). La corrección de Ahlbon considera la siguiente fórmula:

$$Prevalencia\ corregida = \frac{Prevalencia\ encontrada - Especificidad - 1}{Sensibilidad + Especificidad - 1}$$

Donde la Sensibilidad = 0.837 y la Especificidad = 0.989. El modelo se corrió por 30,000 iteraciones y se determinó el intervalo de confianza directamente del resultado de la simulación. El nivel de confianza fue de 95 % ($p < 0.05$) (Abaira, 1996).

Para estudiar si la positividad de la madre representaba un factor de riesgo para la positividad de la cría se efectuó una regresión logística.

IV. RESULTADOS

La positividad de la madre no tuvo ninguna relación estadística con la positividad de la cría ($P > 0.05$). Los análisis mediante la coloración de ZNM demostraron que de las 825 muestras de alpacas neonatas, 43 resultaron positivas a *Cryptosporidium* spp., lo que resulta el 5% del total de muestras. Por otro lado, el 95% del total de las muestras resultaron negativas (782/825), tal como se presenta en el cuadro 6.

Cuadro 6. Prevalencia de *Cryptosporidium* spp en las muestras de alpacas neonatas

DIAGNÓSTICO	ANIMALES MUESTREADOS	PORCENTAJE	95% INTERVALO DE CONFIANZA
POSITIVO	43	5	3.7 – 6.7
NEGATIVO	782	95	93.3 – 96.3
TOTAL	825		

De las 825 muestras fecales de alpacas neonatas menores de 15 días de edad, 400 muestras eran de heces entre pastosas y diarreicas y 425 muestras correspondieron a animales aparentemente sanos. Mediante la coloración de ZNM se encontró que de las 400 muestras de heces entre pastosas y líquidas, 18 resultaron positivas a *Cryptosporidium* spp. Además, de las 425 muestras de animales aparentemente sanos, 25 muestras resultaron positivas a *Cryptosporidium* spp., tal como se aprecia en el cuadro 7.

Cuadro 7. Prevalencia de *Cryptosporidium* spp según tipo de heces de alpacas neonatas

DIAGNÓSTICO	TIPO DE HECES	ANIMALES MUESTREADOS	PREVALENCIA	INTERVALO DE CONFIANZA _(95%)
POSITIVO	NORMAL	25	5%	4% - 7%
	DIARREA	9	3%	2% - 4%
	PASTOSA	9	3%	2% - 4%
	LÍQUIDA	400	48%	56% - 64%
NEGATIVO	NORMAL	115	18%	15% - 21%
	DIARREA	267	41%	37% - 45%
	PASTOSA			
	LÍQUIDA			
TOTAL		825		

La medida de todos los ooquistes de *Cryptosporidium* spp. encontrados se midieron utilizando el programa LAS EZ (Leica). Los ooquistes encontrados midieron en promedio entre 4.79 – 4.71 μm de diámetro, tal como se observa en el cuadro 8, por lo que se les diagnosticó en general como “*C. parvum*-like”.

Cuadro 8. Tamaño de ooquistes de *Cryptosporidium* spp observados en alpacas neonatales positivas, mediante tinción ZNM

MEDIDAS	MEDIA	95% INTERVALO DE CONFIANZA
LARGO	4.79	4.5 - 5.1
ANCHO	4.71	4.4 - 4.9

De las 825 muestras de alpacas madres, 90 resultaron positivas a *Cryptosporidium* spp. mediante la coloración de ZNM, siendo el 11% del total de muestras. Por otro lado 735 muestras resultaron negativas, resultando el 89% del total de las muestras, tal como se observa en el cuadro 9.

Cuadro 9. Prevalencia de *Cryptosporidium* spp en las muestras de alpacas madres

DIAGNÓSTICO	ANIMALES MUESTREADOS	PORCENTAJE	95% INTERVALO DE CONFIANZA
POSITIVO	90	11	8.8 - 13.1
NEGATIVO	735	89	86.9 - 91.2
TOTAL	825		

De las 825 muestras fecales de alpacas madres, 94 muestras eran de heces pastosas y 731 muestras correspondieron a animales aparentemente sanos. De las 94 muestras de heces pastosas 2 resultaron positivas a *Cryptosporidium* spp. mediante la coloración de ZNM. De las 731 muestras de animales aparentemente sanos 90 muestras resultaron positivas a *Cryptosporidium* spp. mediante la coloración de ZNM, tal como se aprecia en el cuadro 10.

Cuadro 10. Prevalencia de *Cryptosporidium* spp en alpacas madres según el tipo de heces

DIAGNOSTICO	TIPO DE HECES	ANIMALES MUESTREADOS	PORCENTAJE	95% INTERVALO DE CONFIANZA
POSITIVO	NORMALES	90	12	9.8 - 14.6
	DIARREA PASTOSA	2	1	1 - 3.2
NEGATIVO	NORMALES	641	88	85.4 - 90.2
	DIARREA PASTOSA	92	99	96.8 - 100.1
TOTAL		825		

Se determinó el tamaño del *Cryptosporidium* spp. encontrados en las madres, tal como se observa en el cuadro 11, por lo que se les diagnosticó como “*C. parvum* like”.

Cuadro 11. Tamaño de los *Cryptosporidium* spp observados en alpacas madres positivas

MEDIDAS	MEDIA	95% INTERVALO DE CONFIANZA
LARGO	4,73	4.6 - 4.9
ANCHO	4.65	4.5 - 4.8

V. DISCUSIÓN

El presente trabajo evaluó la presencia de *Cryptosporidium* spp. en alpacas y su relación con las variables diarrea y relación madre/cría, durante la temporada de parición de alpacas del 2011, mediante la detección de ooquistes con la coloración de Ziehl Neelsen Modificado. No se encontró ninguna asociación entre la positividad de la madre y la positividad de la cría. Se demostró que las ovejas madres excretaban ooquistes de *Cryptosporidium* durante el periparto (Ye et al. 2013). Es muy probable que sea el caso de las alpacas también, pues también podrían estar sujetas a la depresión inmune periparto. Empero, si ese fuera el caso, que debería merecer la atención de los investigadores nacionales, apunta directamente a una limitación potencial del diseño del estudio. En efecto, las crías y sus madres se muestrearon a los 15 días de la parición, tiempo después de la depresión inmune periparto. Es razonable suponer que de infectarse las madres, podría no estar asociado a la infección de las crías. Los animales estudiados fueron madres y crías de hasta 15 días de edad, de las localidades de Keyosenca, Colores, U.N.A. Chuquibambilla y Santa Rosa en la provincia de Melgar del departamento de Puno.

La prevalencia encontrada en alpacas crías nacidas durante la temporada de parición del 2011 fue de 5%, porcentaje que se puede considerar como relativamente bajo, si se compara con los resultados de otras temporadas (10-25%) en animales de la misma edad (López et al., 2009). En este caso, es muy probable que el resultado no esté relacionado a la edad, sino a factores de manejo y climáticos. Por ejemplo, el hacinamiento de los animales contribuye a incrementar la contaminación del ambiente y se favorece la transmisión del parásito (Mohammed et al., 1999; De Graaf et al., 1999; Díaz, 2002). Pero, la baja prevalencia de *C. parvum* reportada en alpacas, en relación con otros rumiantes, se debe a las condiciones de manejo de esos lugares, como la rotación periódica de dormideros, ingestión de calostro después del parto o el tratamiento con antibióticos para prevenir la enterotoxemia y la colibacilosis (Fernández, 1995; Caman, 1996). Una observación hecha desde hace mucho tiempo es que las explotaciones alpaqueras de Puno se cuidan de llevar un buen manejo de sus animales, pues no cuentan con muchas áreas de pastoreo, como para tener una carga animal baja por pastizal (cancha).

(Fayer, 1994), demostró que la viabilidad de los ooquistes de *Cryptosporidium* dependerá de las condiciones climáticas, como temperatura y humedad. Los ooquistes pueden soportar en el medio ambiente temperaturas de 10° a 25° C, rango que les permite mantener la infectividad durante un

año. Sin embargo, el cambio abrupto de temperatura decrece la viabilidad de los ooquistes (Pokorny et al., 2002; Chen et al., 2007). En este sentido, el clima de Puno es frío y seco, con temperaturas máxima media anual y mínima de 21°C y – 15°C, respectivamente. Es de suponer que esta variación de temperaturas, asociada a un manejo eficiente de la población (evitando el hacinamiento) y a un buen sistema de rotación de pastizales, hayan sido algunos de los motivos de la baja morbilidad de la infección observada en el presente trabajo, durante la temporada de parición del 2011.

Los resultados del presente estudio se evaluaron en tablas de contingencia, que presentaban las prevalencias, con intervalos de confianza del 95%. Posteriormente, los datos obtenidos se analizaron utilizando una regresión logística múltiple, a través del paquete estadístico STATA 10.0. En este análisis no se encontró relación entre la presencia de diarrea (líquida y pastosa) con la presencia de *Cryptosporidium* spp. en alpacas de varias localidades de Melgar en Puno. En otras latitudes, (Burton et al., 2012) realizaron un estudio en diversas granjas alpaqueras de Nueva York y Pennsylvania, encontrando una eliminación elevada de ooquistes de *Cryptosporidium*, en alpacas aparentemente sanas. Sin embargo, en estudios anteriores realizados en diversos departamentos del Perú si se encontró asociación entre la presencia de *Cryptosporidium* y diarrea en alpacas neonatas (López et al., 1995; Fernandez, 1995; Romero, 1998). Este hecho demuestra que la presentación de diarrea por *Cryptosporidium parvum* en alpacas crías varía según la región geográfica y la temporada.

El signo característico de la infección por *C. parvum* en animales neonatos es la diarrea profusa. Esta suele ser amarillenta y su consistencia varía de pastosa a líquida (Anderson y Bulgin, 1981). Este cuadro dependerá de la edad de los animales y de la especie involucrada, pues los animales neonatos son más susceptibles a la infección por *C. parvum* y a presentar cuadros diarreicos (Follet et al., 2011). Pero, se vuelven más resistentes conforme se incrementa la edad, por el desarrollo de la resistencia natural del animal (Cordero del Campillo y Rojo-Vázquez, 1999; Aislan y Gicik, 2001). En este estudio no se encontró una gran relación entre la presencia de diarrea, tanto pastosa como líquida, con la presencia de *C. parvum*, a pesar de la corta edad de las crías. Por lo que se asume que este hallazgo se relacionó, tal vez, a la inmunidad del animal o al subtipo de *C. parvum* involucrado en la temporada.

El subtipo de *C. parvum* involucrado en la criptosporidiosis clínica es un hecho que podría tener

una gran relación entre la presencia de *C. parvum* y la diarrea en las crías. En estudios de prevalencia en terneros estabulados se ha encontrado que el *C. parvum* tiene un gran porcentaje (45.1%), y que en determinada área geográficas los subtipos más comunes son el IIaA15G2R1 y el IIaA17G1R1 (Smith et al., 2014). En cabras se encontró que la tasa de infección total de *Cryptosporidium* spp. era de 11% y que el rango variaba entre 2.9-25%. La subtipificación de las muestras positivas de *C. parvum* reveló que los subtipos más comunes fueron IIaA19G1, IIaA14G2R1, IIaA15G1R1, IIaA15G2R1 y IIaA17G2R1 (Mi et al., 2014). En el caso de las alpacas, la prevalencia en crías puede variar (10-25%) de acuerdo a la región y por consiguiente al grado de tecnificación del manejo de los animales (López et al., 2009) y pueden estar afectadas por varios subtipos, entre ellos un subtipo único de *C. parvum*. En este sentido, (Steven et al., 2007) encontraron en la temporada de parición de alpacas del 2006 un gran porcentaje de crías con diarrea. Mediante ZNM y la morfometría de los ooquistes se determinó que los ooquistes encontrados eran de *C. parvum*. Hallazgo que posteriormente se confirmó por análisis moleculares. El aspecto más interesante de este hallazgo fue que el *C. parvum* encontrado en todas las muestras de diarrea de crías menores de 15 días pertenecían a un subtipo único, encontrado solamente en alpacas. Sin embargo, todavía se necesitan más estudios para confirmar este hecho (Steven et al., 2007).

En el presente estudio se encontró que la prevalencia de *Cryptosporidium* en las alpacas madres fue del 11% y que la presencia de *Cryptosporidium* en las madres no es un factor de riesgo para la presentación de *Cryptosporidium* en las crías de algunas localidades del departamento de Puno. Sin embargo, los trabajos realizados durante la temporada de parición de alpacas del 2007 en algunas localidades del departamento de Cusco se encontró una asociación altamente significativa, pues una cria con madre positiva tenía 2.098 veces más riesgo de infectarse con el parásito que una cría con madre negativa (Aguilar et al., Las alpacas adultas, si bien es cierto pueden infectarse con *C. parvum*, *C. ubiquitum* y *C. andersoni*, generalmente están infectadas por *C. ubiquitum* y *C. andersoni*. Además, por ser adultos es común que puedan tener una infección latente y eliminar ooquistes, sin desarrollar una criptosporidiosis clínica, facilitando la diseminación del parásito. (Ye et al., 2013) confirmaron que las ovejas pueden eliminar ooquistes de *Cryptosporidium* por periodos muy cortos de tiempo, durante el periodo periparto, y que este es el mecanismo para el inicio de la infección en los corderos. No obstante, las alpacas sanas tienen la conducta de depositar los excrementos en lugares determinados, formando los llamados estercoleros, que tienen un papel

importante en el control de las infecciones parasitarias. Pero, es de suponer que en explotaciones donde existe una elevada densidad de animales los estercoleros dejan de cumplir este papel. Además, en las crianzas menos tecnificadas la contaminación de los pastos es alta debido a la baja rotación de las canchas (FAO, 2005), por lo que es un factor que influye fuertemente en la presentación de esta infección parasitaria.

Los trabajos de prevalencia, utilizando IFI como herramienta diagnóstica, demostraron que la prevalencia total de *Cryptosporidium* en establos lecheros podía llegar a ser de 10.2% (95% IC 9.4 – 11.1%). Sin embargo, cuando las muestras se analizaron por estrato etario, encontraron que la prevalencia era mayor en terneros recién nacidos menores de 1 mes de edad (45.1%), que en terneros mayores. Adicionalmente, estos trabajos demostraron, mediante PCR, que los terneros considerados recién nacidos eliminaban grandes cantidades de ooquistes de *Cryptosporidium parvum*, mientras que los terneros mayores y las vacas adultas eliminaban más *C. bovis* y *C. andersoni*, respectivamente (Smith et al., 2014). Los resultados encontrados en el presente trabajo demostraron que tanto las crías como las madres sólo eliminaron ooquistes compatibles con “*C. parvum*-like”. En este sentido, basándonos en los estudios de epidemiología molecular, según especificidad de especie y la edad de los animales, es seguro que los ooquistes eliminados por las alpacas crías hayan sido de *C. parvum* (Steven et al., 2007; Starkey et al., 2007; Twomey et al., 2008) y que los de las madres hayan sido de *C. parvum* y de *C. ubiquitum*. Estas dos especies han sido reportadas en animales adultos (Gomez-Couso et al., 2012). No obstante, en las muestras de las madres no se detectaron ooquistes de *C. andersoni*, otra especie reportada en alpacas adultas (Ayala, 2014).

VI. CONCLUSIONES RECOMENDACIONES

Los análisis estadísticos demostraron que durante el periodo de parición de alpacas del 2011:

1. No hubo relación entre la positividad de la madre y la positividad de la cría
2. La prevalencia de *Cryptosporidium* encontrada en las muestras de alpacas crías fue de 5% y de las madres de 11%.
3. Se recomienda estudiar la prevalencia de *Cryptosporidium* por las alpacas madres y las crías durante la depresión inmune periparto, secuenciando las cepas para ver si existe relación entre los *Cryptosporidium* de las madres y sus crías.
4. Se recomienda continuar este trabajo secuenciando las muestras positivas.

BIBLIOGRAFIA

1. **Abraira V. 1996.** Métodos Multivariantes en Bioestadística. Ed. Centro de Estudios Ramón Areces. Madrid – España. 35.
2. **Acha P.; B, Szyfres. 2003.** Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales. 3º Ed. Volumen III. Parasitosis. Organización Panamericana de la Salud. 23 – 24.
3. **Aguilar V, González AE, López-Urbina T, Perales-Camacho R, Gonzales-Gustavson E, Angulo C, Gómez L. 2013.** Madres positivas a *Cryptosporidium parvum* como factor de riesgo para la presentación del patógeno en crías de alpacas con diarrea. Rev Inv Vet Perú, 24(2): 240-247.
4. **Aislan M.O; Gicik, Y. 2001.** Prevalence of *Cryptosporidium* spp. Oocysts in diarrheic calves in Kars province, Turkey. *Turk J Vet Anim Sci*, 25: 161-164.
5. **Anderson B. and Bulgin, M. 1981.** Enteritis caused by *Cryptosporidium* in calves. Vet Med Small Anim Clin. 76: 865-868.
6. **Anderson B.C. 1986.** Effect of drying on the infectivity of cryptosporidia-laden calf feces for 3 to 7 day-old-mice. *Am. J. Vet. Res.*, 47: 2272-2274.
7. **Angus K. 1990.** Cryptosporidiosis in ruminants in: cryptosporidiosis of man and animals. Edited by Dubey J. P., Speer C. A. & Fayer R. 83 – 103.
8. **Atías, A. 1991.** Parasitología Clínica. 3th.ed. Chile: Mediterráneo: 102-104, 462-466.
9. **Avery B. A Lamley. Hornsby. 2007.** *Cryptosporidium*: un patógeno transmitido por el agua. University of Florida. 12.
10. **Ayala FE. 2014.** Prevalencia de *Cryptosporidium* spp. en alpacas (*Vicugna pacos*) machos reproductores del Centro Experimental La Raya, Cusco. Tesis Bachillerato. Fac. Med. Vet. UNMSM. Lima, Perú.
11. **Belosevic M, Guy RA, Taghi-Kilani R, Neumann NF, Gyurék L, Liyanage J, Millard PJ, Finch GR. 1997.** Nucleic acid stains as indicators of *Cryptosporidium parvum* oocyst viability. International Journal of Parasitology 27: 787-798.
12. **Blandino T, Alonso M, Gomez E. 1987.** Monografía Cryptosporidiosis en los animales domésticos y en el hombre. Sociedad cubana de Parasitología del consejo científico veterinario. Cuba. 126.

13. **Bomfim TC, Huber F, Gomes RS, 2005.** Natural infection by *Giardia* sp. And *Cryptosporidium* sp. in dairy goats, associated with possible risk factors of the studied properties. *Vet Parasitol*; 134, 9-13.
14. **Bruzual, E. 1998.** Cryptosporidiosis. "Curso Parasitología" XIII Congreso Latinoamericano de Microbiología, VI Congreso Venezolano de Microbiología "Dr. José Gregorio Hernández" Caracas, 5 - 9 de Noviembre 1996: Imprenta Universitaria de la U.C.V. 62.
15. **Burton AJ, Nydam DV, Mitchell KJ, Bowman DD. 2012.** Fecal shedding of *Cryptosporidium* oocysts in healthy alpaca crias and their dams . *J Am Vet Med Assoc*, 241:496–498.
16. **Bustinza J. 2000.** Enfermedades de las alpacas. 2º ed. Perú: Centro de impresiones EMAVI'S E.I.R.L. 353.
17. **Cama V A, Bern C, Sulaiman I M, Gilman R H, Ticona E, Vivar A, Kawai V, Vargas D, Xiao L. 2003.** *Cryptosporidium* species and genotypes in HIV-positive patients in Lima, Perú. *The Journal of Eukaryotic Microbiology*. 531-533.
18. **Casemore, DP, Roberts C. 1993.** Guidelines for screening for *Cryptosporidium* in stools: Report of a joint working group. *J. Clin. Pathol.* 46 2 – 4.
19. **Causape AC, Quilez J, Sanchez-Acedo C. 2002.** Prevalence and analysis of potential risk factors for *Cryptosporidium parvum* infection in lambs in Zaragoza (northeastern Spain). *Vet Parasitol*; 104, 287-98.
20. **Castro-Hermida JA, I. Pors, F. Méndez-Hermida, E. Ares-Mazas, C. Chartier. 2006.** Evaluation of two comercial disinfectants on the viability and infectivity of *Cryptosporidium parvum* oocysts. *Vet J.*; 171 (2): 340-345.
21. **Chacín-Bonilla L. 2001.** Importancia de las diferentes especies y genotipos de *Cryptosporidium* en Salud Pública. *Investigación Clínica*. 83.
22. **Chen F; K Huang; Q Shunyi; Z Yuxin and P Cuiling. 2007.** Comparision of viability and infectivity of *Cryptosporidium parvum* oocysts stored in potassium dichromate solution and chlorinated tap water. *Veterinary Parasitology* 150 (2007) 13 – 17.
23. **Chermette R., S. Boufassa-Ouzrout. 1988.** Cryptosporidiosis: a cosmopolitan disease in animals and in man. Technical series N°5. Office International Des Epizooties, 2nd Ed. Paris; 122.

24. **Clavel P. 1996.** Curso Zoonosis Emergentes. Mesa Redonda. XII Ed. Universidad de Verano de Teruel. Teruel – España.
25. **Cordero Del Campillo M, Rojo – Vásquez. 1999.** Parasitología Veterinaria. 1º Ed. Editorial Mc Graw-Hill. 213 – 219.
26. **Current WL. 1986.** Cryptosporidium its biology and potencial for environmental transmission. *Cri. Rev. Environment. Control.* 17:21-31.
27. **Current WL. 1988.** The biology of *Cryptosporidium*. ASM News. 605.
28. **Current WL., García LS. 1991.** Cryptosporidiosis. Clin Microbiol Rev; 325.
29. **De Graaf Dc, Vanopdenbosh E, Ortega-Mora LM, Abbassi H, Peeters JE. 1999.** A review of the importance of Cryptosporidiosis in farm animals. *Int J Parasitol.* 1269-1287.
30. **De las Heras M. García de Jalón J. Balanguer L. Baldiola J. 1987.** Diarreas en Corderos y cabritos asociados a Cryptosporidiosis. *Med Vet.* 4 (5-6): 273-276.
31. **Del Coco V, Córdoba M, Basualdo J. 2009.** Cryptosporidiosis: una zoonosis emergente. Revista argentina de microbiología. Vol 41. N° 3. Ciudad Autónoma de Buenos Aires. Julio – Septiembre 2009.
32. **Díaz de Ramírez A. 2002.** Criptosporidiosis en el Ganado Bovino. XI Congreso Venezolano de Producción e Industria Animal. Venezuela. 13.
33. **FAO. 2005.** Situación actual de Camélidos Sudamericanos en Perú. Proyecto de cooperación técnica en apoyo a la crianza y aprovechamiento de los camélidos sudamericanos en la región andina. Organización de las naciones unidas para la agricultura y la alimentación. 63.
34. **Faubert G.M. and Litvinsky Y. 2002.** Natural transmission of *Cryptosporidium parvum* between dams and calves on a dairy farm. *J. Parasitol.*, 86 (3), 2002. 495-500.
35. **Fayer R, Ungar B. 1986.** *Cryptosporidium* spp. And Cryptosporidiosis. *Microbol Reviews*; 50 (4): 458 – 483.
36. **Fayer R, Nerad T, Rall W, Lindsay DS, Blagburn BL. 1991.** Studies on cryopreservation on *Cryptosporidium parvum*. *J. Parasitol.*, 77:357 – 361.
37. **Fayer R, Speer CA, Dubey JP. 1997.** The general biology of *Cryptosporidium*. In R. Fayer Ed. *Cryptosporidium* and cryptosporidiosis. *Crc Press.* 41.
38. **Fayer R, Morgan U, Upton S. 2000.** Epidemiology of *Cryptosporidium*: transmisión, detection and identification. *Int J Parasitol.* 30: 1305-1322.

39. **Fayer R., M. Santín, L. Xiao. 2005.** *Cryptosporidium bovis* N. sp. (Apicomplexa: Cryptosporidiidae) in cattle (*Bos Taurus*). *J. Parasitol.*, 91(3), 2005, 624-629.
40. **Fayer R, Santín M, Trout JM. 2006.** Prevalence of *Cryptosporidium* species and genotypes in mature dairy cattle on farms in eastern United States compared with younger cattle from the same locations *Vet. Parasitol.* 145: 260-266
41. **Fayer R, Santín M, Trout JM. 2008.** *Cryptosporidium ryanae*. sp. (Apicomplexa: Cryptosporidiidae) in cattle (*Bos taurus*). *Vet Parasitol.* 156(3-4):191-8.
42. **Fayar R, Santín M. 2009.** *Cryptosporidium xiaoi* n. sp. (Apicomplexa: Cryptosporidiidae) en ovejas (*Ovis aries*). *Vet Parasitol.* 164(2-4): 192-200.
43. **Fernández M. 1995.** Prevalencia de *Cryptosporidium parvum* en alpacas neonatas del centro experimental La Raya, Cuzco. Tesis Bachillerato. Fac. Med. Vet. UNMSM. Lima, Perú.
44. **Follet J, Guyot K, Leruste H, Follet-Dumoulin A, Hammouma-Ghelboun O, Certad G, Dei-Cas E, Halama P. 2011.** *Cryptosporidium* infection in a veal calf cohort in France: molecular characterization of species in a longitudinal study. *Vet Res*, 42:116.
45. **Foroca D, Zanabria V, Málaga J, Vilca F. 2001.** Cryptosporidiosis en alpacas crías del centro de investigación y producción La Raya-UNA.- Puno. *Fac Med Vet y Zootecnia*. Puno, Perú.
46. **Foreyt W. 1990.** Coccidiosis and Cryptosporidiosis in sheep and goats. *Vet Cli of Nor. Arm: Food Animal Practice*; 6 (3): 655-70.
47. **Foster JC, Glass MD, Courtney PD , Ward LA. 2003.** Effect of *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* on *Cryptosporidium parvum* oocyst viability. *Food Microbiology* 20 351–357.
48. **Genta R, Chappell C, White AJr, Kimball K, Goodgame R. 1993.** Duodenal morphology and intensity of infection in AIDS-related intestinal cryptosporidiosis. *Gastroenterol.* 1769.
49. **Gómez Couso, Ares E. 2011.** *Cryptosporidium* en la desinfección solar del agua de bebida. Universidad de Santiago de Compostela – Facultad de Farmacia – Departamento de Microbiología y Parasitología. 160: 52-53.
50. **Gómez-Couso H, Ortega-Mora LM, Aguado-Martínez A, Rosadio-Alcántara R, Maturrano-Hernández L, Luna-Espinoza L, Zanabria-Huisa V, Pedraza-Díaz S. 2012.** Presence and molecular characterisation of *Giardia* and *Cryptosporidium* in alpacas (*Vicugna pacos*) from Peru. *Veterinary Parasitology* 187: 414– 420.

51. **Gorman, GG. 1987.** La Criptosporidiosis: Una nueva entidad clínica. Monog. Med. Vet. 9(2): 52-60.
52. **Harp JA; Fayer R.; Pesh BA; Jackson GJ. 1996.** Effect of pasteurization on infectivity of *Cryptosporidium parvum* oocysts in water and milk. Appl Environ Microbiol 1996; 62: 2866 – 8.
53. **Henricksen S, Pohlenz J. 1981.** Staining of *Cryptosporidium* by a Modified Ziehl-Neelsen technique. Act. Vet. Scand; 22: 594-596.
54. **Jenkins M, Trout J, Fayer R. 1997.** A semi – quantitative method for measuring *Cryptosporidium parvum* infection using polymerase chain reaction. Journal of Microbiological Methods 28: 99 – 107.
55. **Juranek D.D. 2000.** Cryptosporidiosis en Strickland, G.T. Tropical medicine and emerging diseases. Ed. Saunders Company, 8^{va} Ed., Philadelphia, 1192.
56. **Kvác M, Kouba B, Vítovec J. 2006.** Age-related and housing-dependence of *Cryptosporidium* infection of calves from dairy and beef herds in South Bohemia, Czech Republic. J. Parasitol, 137: 202-209.
57. **Leguía, G. 1991.** The Epidemiology and Economic Impact of Llama Parasites. Parasitol Today, 7: 54-56.
58. **Liu K, Zai D, Zhang D, Wei Q, Han G, Gao H, Huang B. 2010.** Divalent Cp15-23 vaccine enhances immune responses and protection against *Cryptosporidium parvum* infection. Parasite Immunol, 32: 335-344.
59. **López T. 1997.** Estudio epidemiológico de la criptosporidiosis en alpacas neonatas. Tesis Doctoral, Univ. de León. España. 177.
60. **López-Urbina MT, A.E. González AE, Gomez-Puerta LA, Romero-Arbizu MA, Perales-Camacho RA, Rojo-Vázquez FA, Xiao L, Cama V. 2009.** Prevalence of Neonatal Cryptosporidiosis in Andean Alpacas (*Vicugna pacos*) in Peru. The Open Parasitology Journal, 3: 9-13.
61. **Lorenzo-Lorenzo MJ, Ares-Masáz ME, Villacorta I. 1993.** Detection of oocysts and Ig G antibodies to *Cryptosporidium parvum* in asymptomatic adult cattle. Veterinary Parasitology 47: 9 – 15.
62. **Luján N., Garbossa G. 2008.** Cryptosporidium: Cien años después. Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana. Vol 42. N° 2. Abril – Junio 2008. La Plata – Argentina.

63. **Machado Y, López R, Serrano H, 2009.** Actualización sobre Cryptosporidiosis. Departamento de Parasitología. Universidad Central “Marta Abreu” de Las Villas. Santa Clara – Cuba.
64. **Mackey M. 2007.** Diseños de Investigación. Centro Rosarino de Estudios Perinatales. Argentina. 35.
65. **Mann E. et al. 1986** Infection with *Cryptosporidium spp.* in humans and cattle in Manitoba – Canadá. J Vet Res. 50: 174 – 178.
66. **Matsui T, Fujino T, Kajima J, Tsuji M. 2001.** Infectivity and oocyst excretion patterns of *Cryptosporidium muris* in slightly infected mice. J. Vet. Med. Sci 63 (3): 319 – 320.
67. **Mehlhorn H, Piekarski G. 1993.** Fundamentos de Parasitología (parásitos del hombre y de los animales domésticos). Editorial Acribia S.A. España. 59 – 64.
68. **Méndez A, Maldonado A, Ruiz-Villamor E, Bautista M, Huerta B, Sierra E, Borge C. 2006.** Enfermedades Neonatales. Asociación Mexicana de Criadores de Ovinos. Tulancingo - México.
69. **Mi R, Wang X, Huang Y, Zhou P, Liu Y, et al. 2014.** Prevalence and Molecular Characterization of *Cryptosporidium* in Goats across Four Provincial Level Areas in China. PLoS ONE 9(10): e111164. doi:10.1371.
70. **MINAG. 2007.** Sector Pecuario – Camélidos Sudamericanos en Perú. Consejo Nacional de Camélidos Sudamericanos. 23.
71. **Moore D. A. 1989.** Minimizing morbidity and mortality from Cryptosporidiosis. Symposium on neonatal calf diarrhea. Vet. Med. 8: 11-15.
72. **Moro M. 1971.** Enfermedades infecciosas y parasitarias. Bol Div; IVITA, Lima, (8): 9-37.
73. **Moral L. 2006.** Modelos de Regresión lineal simple y regresión logística. Seden. Cap. 14. España. 214.
74. **Morgan U, Xiao L, Fayer R, Lal A, Thompson R. 1999.** Variation in *Cryptosporidium*: towards a taxonomic revision of the genus. International Journal of Parasitology, 29: 1733-1751.
75. **Muñoz S. 2001.** Identificación de 5 tipos de parásitos de *Cryptosporidium* en niños de Lima, Perú. Rev. Gastroenterol. Perú. Vol 21. N° 3. Lima, Perú. 183.
76. **O'Donaghue PJ. 1995.** Cryptosporidium and Cryptosporidiosis in man and animals. Int. J. Parasitol, 25: 139-195.

77. **Olay G. 1997.** Parasitosis Emergentes Importancia Clínica de las Coccidias Intestinales. Biblioteca Virtual. Mexico D.F., Mexico.
78. **Olson M, R. O’Handley. 2004.** Update on *Cryptosporidium* and Giardia infections in cattle. *Trends In Parasitology*. 20: 4. 185 – 191.
79. **Ortega-Mora L. 1996.** Biología, epidemiología y control de la cryptosporidiosis. Res XIII Cong Nac Cienc Vet Lima – Perú. 170 – 176.
80. **Ortega-Mora LM, Gómez M, Rojo-Vásquez F. 1999.** Cryptosporidiosis en parasitología veterinaria. Editores M. Cordero del Campillo y F. Rojo-Vázquez. Ed. Mc Graw-Hill Interamericana. Madrid. 213-221.
81. **Peeters JE, Mazas EA, Masschelein WJ, Villacorta – Martinez de Maturana, Debacker E. 1989.** Effect of disinfection of drinking wáter with ozone or chlorine dioxide on survival of *Cryptosporidium parvum* oocysts. *Applied and environmental Microbiology* 55: 1519 – 1522.
82. **Pokorny N J, Weir S C, Carreno R A, Trevost J T, Lee H. 2002.** Influence of temperature on *Cryptosporidium parvum* oocyst efectivity in river water simples as detected by tissue culture assay. *J. Parasitol.* 88 (3). 641 – 643.
83. **Polack B, Chermette R, Savey M, Bussieras J. 1983.** Les Cryptosporidies en France. Techniques usuelles d’ identification et resultants preliminaires d’ enquêtes epidemiologiques. *Point Vet*; 15 (71): 41 – 46.
84. **Power ML, Ryan UM. 2008.** A new species of *Cryptosporidium* (Apicomplexa: Cryptosporidiidae) from eastern grey kangaroos (*Macropus giganteus*); *J Parasitol.* Oct; 94 (5): 1114.
85. **Prescott L, Harley J, Klein D. 1999.** Microbiología y Parasitología. McGraw-Hill .Inter-americana, 4ª Ed. Madrid - España. 210.
86. **Rada G. 2007.** Estudios de Caso y Control. Universidad de Chile. 17.
87. **Ramirez NE, Ward LA, Sreevatsan S. 2004.** A review of the biology and epidemiology of cryptosporidiosis in humans and animals. *Microbes infect.* 6: 773-775.
88. **Redondo A. 1996.** Diccionario de Términos Médicos. Euroamericana de Ediciones Internacional. España. 278.
89. **Regan J, Mcvay R, Mcvoy M, Gilbert J, Hughes R, Tougaw T, Parker E, Crawford W, Johnson J, Rose JB, Boutros S, Roush S, Belcuore T, Rains C, Munden J, Stark L, Hartwig E, Pawlowiez M, Hammond R, Windham D, Hopkins R. 1996.** Outbreak of cryptosporidiosis at a day camp. *Morbid. Mortal. Week. Rep.* 45: 442 – 444.

90. **Robertson LJ, Campbell AT, Smith HV. 1993.** In vitro excystation of *Cryptosporidium parvum*. *Parasitology* 106: 13 – 19.
91. **Rodríguez Ferrero M, Muñoz P, Valerio M, Bouza E, Martín-Rabadán P, Anaya F. 2010.** Infección por *Cryptosporidium parvum* en un receptor de trasplante renal. *Nefrología (Madr.)* v.30 n.4. Madrid – España. 36 – 38.
92. **Rojas M, Lobato Y, Montalvo M. 1988.** *Cryptosporidium* en Camélidos Sudamericanos. *Res XI Cong Panam Cienc Vet, Lima-Perú.* 70.
93. **Rojas M. 2004.** Nosoparasitosis en los rumiantes domésticos peruanos. 2º Ed. Lima Perú. 120 – 123.
94. **Rossignol JF, Kabil SM, El-Gohary Y, Younis AM. 2006.** Effect of nitazoxanide in diarrhea and enteritis caused by *Cryptosporidium* species. *Clin Gastroenterol Hepatol*; 4(3): 320-324.
95. **Ruíz-Santa-Quiteria J. 2000.** Detección de los enteropatógenos principales en brotes diarreicos de terneros. *Med Vet. Vol 17(6): 155 – 162.*
96. **Santín M, James M, Trout T, Xiao L, Zhou L, Greiner E, Fayer R. 2004.** Prevalence and Age-related variation of *Cryptosporidium* species and genotypes in dairy calves. *Veterinary Parasitology* 122: 103-117.
97. **Santín M, Fayer R. 2007.** Intragenotypic variations in the *Cryptosporidium* cervine genotype from sheep with implications for public health. *Journal of Parasitology.* 93(3): 668-672.
98. **Santín M, Trout JM, Fayer R. 2008.** A longitudinal study of cryptosporidiosis in dairy cattle from birth to 2 years of age. *Vet Parasitol*; 155:15–23.
99. **Sazmand A, Rasooli A, Nouri,M, Hamidinejar H, Hekmatimoghaddam S. 2012.** Prevalence of *Cryptosporidium* spp. in Camels and Involved People in Yazd Province. *Iran Iranian J Parasitol* 7(1).80-84
100. **SENAMHI, Dirección regional de Puno. 2012.** [Internet], [14/09/2012]. Disponible en: <http://www.senamhipuno.org/web>.
101. **Shahbazi P, Shayan P, Ebrahimzadeh E, Rahbari S. 2009.** Specific Egg Yolk Antibody against Recombinant *Cryptosporidium parvum* P23 Protein. *Iranian J Parasitol: Vol. 4, No.3 pp. 15-24.*
102. **Shen Y, Yin J, Yuan ZY, Lu WY, Xu YX, Xiao L, Cao J. 2011.** The Identification of the *Cryptosporidium ubiquitum* in Prewaned Ovines from Aba Tibetan and Qiang Autonomous Prefecture in China *Biomed. Environ Sci*, 24(3): 315-320.

103. **Slikfo TR, Friedman D, Rose JB, Jakubowski W. 1997.** An in vitro method for detecting infectious *Cryptosporidium* oocysts with cell culture. Applied and Environmental Microbiology 63 : 3669 – 3675.
104. **Smih HV, Diarmid MC, Smith AL, Hinson AR, Glimour RA. 1989.** An analysis of staining methods for the detection of *Cryptosporidium* spp. oocysts in water – related samples. Parasitology 99 : 323 – 327.
105. **Smith RP, Clifton-Hadley FA, Cheney T, Giles M. 2014.** Prevalence and molecular typing of *Cryptosporidium* in dairy cattle in England and Wales and examination of potential on-farm transmission routes. Vet Parasitol, 204: 111-119.
106. **Snodgrass D. R. and Angus. 1983.** Enteritis in young lambs. Parasitol Today. 9(3): 43-49.
107. **Starkey S.R, Johnson A.L, Ziegler P.E, Mohammed H.O. 2007.** An outbreak of cryptosporidiosis among alpaca crias and their human caregivers. J Am. Vet. Med Assoc. 68: 1562 – 1567.
108. **Stephen H. G., R. Person 2001.** Principles and practice of clinical parasitology. 1º Ed. Jhon Wiley & Sons, Ltd. 139 – 147.
109. **Stevens TK, Cama V, Wenli Yang, López MT, Gomez L, González AE, Xiao L. 2007.** Unique *Cryptosporidium parvum* infection in alpacas in Perú. Internacional *Giardia* and *Cryptosporidium* Conference. Morelia, Michoacan, Mexico, p37.
110. **Soares P, Ortolani E. 2003.** Aspectos epidemiológicos de la criptosporidiosis en becerros de rebaños lecheros. Parasitol Latinoam 58: 122 – 127.
111. **Surumay Q, Soto J, Esqueda I. 1996.** *Cryptosporidium baileyi* en la bolsa de Fabricio de pollos de engorde, Región Centro-Costera de Venezuela. Veterinaria Tropical 21(1): 103 – 107.
112. **Troncoso J.M. 1992.** *Cryptosporidium parvum* en la diarrea neonatal en pequeños rumiantes y algunos aspectos epizootiológicos de la Cryptosporidiosis en corderos (Tesis Doctoral). Fac. Med. Vet.: Universidad Complutense de Madrid. 216.
113. **Twomey DF, Barlow AM, Bell S, Chalmers RM, Elwin K, Giles M, Higgins RJ, Robinson G, Stringer RM. 2008.** Cryptosporidiosis in two alpaca (*Lama pacos*) holdings in the South-West of England. Vet J. 175: 419 – 422.
114. **Tzipori S. 1988.** Cryptosporidiosis in perspective. Advances in Parasitology, 27: 67-128.
115. **Upton S.J., Current W.L. 1985.** The species of *Cryptosporidium* (Apicomplexa: Cryptosporidiidae) infecting mammals. Int J Parasitol. 71: 625-629.

116. **Urquhart G. 2001.** Parasitología Veterinaria. 2º Ed. Editorial Acribia. España. 266 – 267.
117. **Vásquez O, Álvarez R, Gonzales N, Neme G, Romeo R. 1998.** Diagnóstico y tratamiento de infección por *Cyclospora cayetanensis* en pacientes pediátricos. Rev. Gastroent. Perú 18(2): 116-120.
118. **Vela E, Vásquez R. 1995.** Elisa en *Cryptosporidium*. Microbiología e Infectología. 22.
119. **Villacorta L, Ares-Mazas E, Lorenzo M. 1991.** *Cryptosporidium parvum* in cattle, sheep and pigs in Galicia (N. W. Spain). Vet Parasitol. (38); 249-252.
120. **Wang R, Jinfeng Z, Lu Q, Zhang L, Jian F, Ning C, Xiao L. 2011.** *Cryptosporidium andersoni* is the predominant species in post-weaned and adult dairy cattle in China.
121. **Whitehead CE, Anderson DE. 2006.** Neonatal diarrhea in llamas and alpacas. Small Ruminant Res 61: 207–205.
122. **Wietz J C, Astorga B. 1993.** *Cryptosporidium parvum* in patients with chronic diarrhea and AIDS; diagnosis by means of indirect immunofluorescence with monoclonal antibodies. Rev. Med. Chil. 121 (8): 923 – 926.
123. **Wong P, Ong C, 2006.** Molecular characterization of the *Cryptosporidium* cervine genotype. Parasitology. 133 (6). 693-700.
124. **Xiao L., R. Herd. 1994.** Review of equine *Cryptosporidium* infection. Equine Vet. J. 26 (1): 9-13.
125. **Xiao L, Morgan U, Fayer R, Thompson R, Lal A. 2000.** *Cryptosporidium* systematics and implications for public health. Parasitology Today. 16: 287-292.
126. **Xiao L, Bern C, Limor J, Sulaiman I, Roberts J, Checkley W, Cabrera L, Gilman R H, Lal A. 2001.** Identification of 5 types of *Cryptosporidium* parasites in children Lima, Peru. J. Infect. Dis. 183, 492 – 497.
127. **Xiao L, Fayer R, Ryan U, Upton S J. 2004.** *Cryptosporidium* taxonomy: recent advances and implications for public health. Clin Microbiol Rev. 17(1): 72- 97.
128. **Ye J, Xiao L, Wang Y, Wang L, Amer S, Roellig DM, Guo Y, Feng Y. 2013.** [Vet Parasitol](#) 8:197: 627-33.
129. **Ysamar Y, Chirinos V, Rojas M, Salinas G, Bastidas G, García F. 2004.** Frecuencia de criptosporidiosis en becerreros de diez fincas de la zona ganadera de Tucacas, estado Falcón, Venezuela. Rev. Fac. Cs. Vets. ucv. 45.